

Aus: Institut für Neuropathologie des Klinikum Steglitz der
Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. Cervós-Navarro

**DAS EXPERIMENTELLE FETALE
ALKOHOLSYNDROM
LICHT- UND ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE
UNTERSUCHUNGEN AM KLEINHIRN DER RATTE**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

Vorgelegt von:
Maria-Brigitta Ott-Radtke
aus

Essen

1904



Aus: Institut für Neuropathologie des Klinikum Steglitz der
Freien Universität Berlin

Geschäftsführ.Direktor: Prof.Dr.med.J.Cervós-Navarro

DAS EXPERIMENTELLE FETALE ALKOHOLSYNDROM
LICHT- UND ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN
AM KLEINHIRN DER RATTE

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

Vorgelegt von:
Maria-Brigitta Ott-Radtke
aus
Essen

Referent: Prof. Dr. med. Cervós-Navarro

Korreferent: Prof.Dr.med. H.-J. Merker

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 3. August 1984

INHALT

A Einleitung

1. Epidemiologische Aspekte
2. Klinik und Pathogenese der Alkoholembryopathie (AE)
3. Stand und Ergebnisse tierexperimenteller Arbeiten
zur Alkoholembryopathie
4. Fragestellung
5. Aspekte des Alkoholstoffwechsels
6. Anatomie

B Material und Methoden

1. Versuchstiere
2. Tierstallbedingungen
3. Ernährung
4. Versuchsgruppen
5. Messungen und Beobachtungen
6. Präparation und Fixationsmethoden

C Ergebnisse

1. Postnatales Wachstum der Jungtiere
2. Schwimmtest
3. Histogenese des Kleinhirnwurms (Lichtmikroskopie)
4. Histogenese der Purkinjezellen (Elektronenmikroskopie)

D Diskussion

E Zusammenfassung

F Literatur

G Dank

H Lebenslauf

A Einleitung

1. Epidemiologische Aspekte

Die Bundesrepublik Deutschland ist heute mit der Alkoholkrankheit als einer Volkskrankheit konfrontiert.

Zur Verdeutlichung seien nachfolgend einige Zahlen angeführt:

Der pro-Kopf-Verbrauch an reinem Alkohol pro Jahr stieg in der Bundesrepublik Deutschland von 3,2 l (1952) auf 12,3 l (1975), d.h. er vervierfachte sich in diesem Zeitraum nahezu. Das bedeutet gegenüber vergleichbaren Industrienationen den größten Anstieg überhaupt. Entsprechend wird die Zahl der Alkoholabhängigen in der Bundesrepublik Deutschland gegenwärtig auf 1,2 - 1,5 Millionen geschätzt. Rechnet man die betroffenen Familien hinzu, leiden ca. 4 Millionen Menschen am Alkoholismus-Problem. Rund 7 % der Bevölkerung gelten als potentiell gefährdet. In der Tendenz zeichnet sich ein zunehmender Anstieg der Alkoholabhängigkeit ab, insbesondere eine weitere Ausdehnung auf Frauen (20 %) und Jugendliche (10 %) (DÖRNER und PLOG, 1978).

Die Konsequenzen dieses massenhaften Gebrauchs der Droge Alkohol sind Milliarden direkter und indirekter Folgekosten, Senkung der Lebenserwartung, Erhöhung der Sterblichkeit und Suizidrate, Zerstörung der Familien, Beteiligung des Alkohols an der Kriminalität und im Straßenver-

kehr und nicht zuletzt die körperliche und geistige Schädigung von Neugeborenen.

Alkohol gilt in der Bundesrepublik Deutschland inzwischen als bedeutendste teratogene Droge.

Exakte Daten über die Häufigkeit alkoholgeschädigter Neugeborener liegen noch nicht vor. Schätzungen bewegen sich für die Bundesrepublik Deutschland zwischen 1.500 und 3.000 erkrankter Kinder aller Schweregrade pro Jahr (LEIBER, 1977).

2. Klinik und Pathogenese der Alkoholembryopathie (AE)

Eine teratogene Wirkung des Alkohols wird schon seit einigen Jahrhunderten vermutet. Erst LEMOINE aber und seine Mitarbeiter haben 1968 aufgrund einer damals kaum beachteten klinischen Studie der Alkoholembryopathie einen bestimmten Symptomenkomplex zuordnen können. Bahnbrechend auch in die Fachwelt hinein war dann fünf Jahre später die Veröffentlichung von JONES und Mitarbeitern (1973), in welcher der Begriff des "Fetales Alkoholsyndrom" geprägt wurde (in das deutsche Schrifttum allerdings als "Alkoholembryopathie" eingeführt).

Die wichtigsten klinischen Einzelsymptome der Alkoholembryopathie (AE) wurden von MAJEWSKI (1978) nach ihrer Bedeutung und Häufigkeit aufgeschlüsselt, nicht zuletzt, um den klinisch Tätigen eine frühzeitige Diagnosestellung sowie die Einschätzung des jeweiligen Schweregrades der embryonalen Schädigung zu ermöglichen. Diese o.g. Symptomenordnung wurde von NESTLER et al. (1981) in tabellarischer Form modifiziert (s. Tab. 1).

Übereinstimmend beschreiben alle Autoren das Krankheitsbild der AE als

- prä- und postnatale Wachstums- und Gewichtsverzögerung
- geistige Retardierung
- Mikrozephalie
- kranio-faziale Dysmorphie
- Mißbildungen an Herz und Extremitäten.

Die Fülle und Variationsbreite der Symptomatik liegt darin

Die Alkoholembryopathie: Klinische Merkmale (Tab. 1)

A. KARDINALSYMPTOME	
PRÄ/POSTNALE DYSTROPHIE MIKROZEPHALUS STATOMOT./MENTALE RETARDIERUNG HYPERAKTIVITÄT	
B. KRANIOFAZIALE DYSMORPHIE	
1. AUGE:	EPIKANTHUS BLEPHAROPHIMOSE/PTOSIS ANTIMONGOLOIDE LIDACHSE STRABISMUS MYOPIE (SELTEN)
2. OHR:	OHRDYSPLASIE
3. NASE:	KURZER NASENRÜCKEN NASOLABIALFALTEN
4. MUND:	SCHMALES LIPPENROT HOHER GAUMEN/ GAUMENSPALT
5. UNTER- KIEFER:	RETROGENIE
C. FAKULTATIVE SYMPTOME	
1. KARDIOVASKULÄRE STÖRUNGEN	HERZFEHLER HÄMANGIOME
2. UROGENITALE FEHLBILDUNGEN	GENITALANOMALIEN: - HYPOSPADIE - KLITORISHYPERTROPHIE STEISSBEINGRÜBCHEN NIERENFEHLBILDUNGEN HERNIEN
3. SKELETTANOMALIEN	HANDFEHLBILDUNGEN: - KLINODAKTYLIE - KAMPTODAKTYLIE - NAGELHYPOPLASIE - ANORMALE HANDFURCHEN SUPPINATIONSHEMMUNG: - FINGER - ELLBOGEN HÜFTLUXATION TRICHTERBRUST

begründet, daß das jeweilige Schädigungsmuster ein Ausdruck davon ist, welches Organ sich zum Zeitpunkt des Einwirkens von Äthylalkohol als schädigendes Agens im Rahmen der Organogenese in seiner vulnerablen Phase befindet.

Der relativen Übereinstimmung in der Beschreibung der Symptomatologie der AE steht eine recht kontroverse Betrachtung ihrer Pathogenese gegenüber. So konnte bis heute kein befriedigendes Konzept über die Ursachen der AE entwickelt werden. Umstritten ist selbst die Frage, ob das schädigende Agens der Alkohol oder seine Metaboliten darstellen.

So untersuchten verschiedene Autoren mögliche teratogene, zytotoxische und mutagene Einflüsse des Acetaldehyds als primärem Metaboliten des Äthylalkohols (O 'SHEA und KAUFMAN, 1979; VEGHELYI, 1978 und 1983).

O 'SHEA und KAUFMAN (1979) stellten nach intravenöser Applikation einer Acetaldehyd-Lösung an schwangere Mäuse eine deutliche Zunahme der Resorptionsrate, eine Reduktion von Länge und Gewicht der Mäuseembryonen sowie eine Verringerung ihres Proteingehaltes fest. Der Einfluß des Acetaldehyd erwies sich als dosisabhängig, wobei in der o.g. Versuchsanordnung eine sehr hohe Dosis appliziert wurde. Es scheint als gesichert, daß Acetaldehyd bei einer Konzentration von 100 nmol/ml mütterlicher Blutkonzentration nicht in den fetalen Blutkreislauf der Ratte gelangt (KESANIEMI u. SIPPEL , 1975). Andere Untersucher konnten sehr niedrige Acetaldehyddehydrogenase - Aktivitäten in

Rattenplazenten am Tag 15 und 20 der Schwangerschaft nachweisen (SJOBLUM et. al., 1978). Es kann mit großer Wahrscheinlichkeit davon ausgegangen werden, daß im Fetus selbst keine großen Mengen Acetaldehyd gebildet werden und jede Toxizität des Acetaldehyd sicherlich im engen Kontext mit mütterlichen Stoffwechselvorgängen betrachtet werden muß (HENDERSON, 1981).

Ein kombinierter toxischer Effekt von Alkohol und Acetaldehyd ist ebenso möglich. Dies konnte schon im Zusammenhang mit der mitochondrialen Proteinsynthese gezeigt werden (BURKE und RUBIN, 1979).

VEGHELYI (1978) behandelte schwangere Ratten mit nahezu 4 g Äthanol/kg/d. Eine zweite Gruppe von schwangeren Ratten wurde mit Disulfiram, welches als Inhibitor der Acetaldehyddehydrogenase fungiert, behandelt. Eine dritte Gruppe erhielt eine Mischung aus Disulfiram und Äthanol. Bei den Nachkommen der mit Äthanol oder Disulfiram behandelten Versuchstiere stellte VEGHELYI im Vergleich zu den Kontrolltieren keine Unterschiede fest. Bei den Nachkommen der mit der Kombinationslösung (Äthanol-Disulfiram) behandelten Ratten konstatierte er eine erhebliche Zunahme der fetalen Resorption und ein signifikant verringertes Geburtsgewicht. Aus diesem Experiment schlußfolgerte VEGHELYI eine dem Äthanol noch überlegenere Teratogenität des Acetaldehyds. Diese These wird von MAJEWSKI (1981) auf der Grundlage eigener klinischer



Untersuchungen unterstützt, nach denen Alkoholikerinnen sich durch eine zunehmende Unfähigkeit auszeichnen, Acetaldehyd zu metabolisieren.

Jüngste Untersuchungen widersprechen der oben erwähnten und von zahlreichen Untersuchern behaupteten Abhängigkeit des Acetaldehydspiegels von der Dauer und Menge des Alkoholkonsums. VEGHELYI (1983) schlußfolgert aus seinen Studien, daß nicht die Menge des Alkohols sondern die Gesundheit bzw. Stoffwechsellaage der Mutter darüber entscheidet, ob das Kind normal geboren wird.

Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang auch die von verschiedenen Autoren gemachte Feststellung, daß keine statistisch zu sichernde Korrelation zwischen der Menge des von den Müttern im Einzelfall konsumierten Alkohols und dem Grad der Schädigung der Frucht besteht (MAJEWSKI, 1981). Wichtig ist auch die von MAJEWSKI (1981) erkannte Tatsache, daß Kinder mit schwerer Alkoholembryopathie - d.h. Kinder, die neurologisch auffällig sind und eine erhebliche Verzögerung der geistigen Entwicklung zeigen - nahezu ausschließlich von Müttern mit chronischem Alkoholabusus geboren werden. Dies läßt wiederum auf die Bedeutung metabolischer Vorgänge im Organismus der Mutter schließen (vgl. BIERICH, 1980).

3. Stand und Ergebnisse tierexperimenteller Arbeiten zur Alkoholembryopathie

Schon zu Beginn dieses Jahrhunderts gab es Versuche, teratogene Effekte von Alkohol tierexperimentell nachzuweisen. So konnte STOCKARD bereits 1910 bei Hühnern und Meerschweinchen nach Alkoholapplikation Verhaltensänderungen feststellen. Aufgrund methodologischer Schwierigkeiten gelang es ihm aber nicht, seine eigenen Versuchsergebnisse zu reproduzieren.

PAPARA-NICHOLSON und TELFORD (1957) stellten bei Meerschweinchen, deren Müttern während der Tragzeit Alkohol zugeführt wurde, ein verringertes Geburtsgewicht fest. Bei den Tierversuchen von PILSTROM und KIESSLING (1967) mit Wistar-Ratten fielen eine erhöhte Mortalitätsrate und ein verringertes Geburtsgewicht auf.

Seit ihrer Begriffsprägung (s.o.) wurde die komplexe Problematik der AE dann in zunehmendem Maße tierexperimentell behandelt: TZE und LEE (1975); ELLIS und PICK (1976); HENDERSON und SCHENKER (1977); MARTIN et al. (1977); SWANBERG und CRUMPACKER (1977); THADANI et al. (1977); TITTMAR (1977); YANAI und GINSBURG (1977); ABEL (1978) sowie ABEL und DINTCHEFF (1978).

Nahezu Übereinstimmend stellten die o.g. Autoren, die mit unterschiedlichen Tierspezies wie Mäusen, Ratten und Meerschweinchen arbeiteten, ein verringertes Geburtsgewicht und eine erhöhte Mortalität fest.

CHERNOFF (1975) konnte bei schwangeren Mäusen durch eine

orale Alkohol-Diät ein Schädigungsmuster bei den Nachkommen erzeugen, welches in vielen Einzelsymptomen der humanen Alkoholembyopathie entsprach. SHAYWITZ und Mitarbeitern gelang es 1981 erstmals in einer ähnlichen Versuchsanordnung, die beim Menschen beobachteten Verhaltensauffälligkeiten im Sinne eines "Hyperaktives Syndrom" darzustellen.

Andere tierexperimentelle Arbeiten befaßten sich insbesondere mit der neurotoxischen Wirkung von Äthylalkohol:

SANDOR und ELIAS (1968) produzierten bei Hühnerembryonen durch Alkoholgabe Hirn- und Rückenmarksdefekte. CHERNOFF (1977), dessen Versuchsmäuse vor und während der Tragzeit eine Alkoholdiät bekamen, stellte verschiedene Hirnmißbildungen, wie erweiterte Ventrikel und Verlust des Corpus callosum fest. Diese Mißbildungen nahmen mit steigender Alkoholkonzentration der Nahrung zu.

Signifikant kleinere Gehirne bei 18 und 15 Tage alten Ratten fanden DRUSE und HOFTEIG (1977).

RAWAT (1975) untersuchte die Inkorporation von Leucin in fetalen und neonatalen Rattenhirnen sowie den DNA- und RNA-Gehalt der Gehirne. Sowohl die Leucin-Inkorporation als auch der DNA- und RNA-Gehalt nahmen bei den Nachkommen der mit Alkohol behandelten Müttern deutlich ab.

Eine Reduktion der Körner- und Molekularschicht und der Anzahl der Purkinjezellen im Kleinhirn beobachteten BAUER-MOFFET und ALTMAN (1975). VOLK (1977, 1979) wies an Rattenkleinhirnen eine verzögerte Histogenese und

Synaptogenese nach.

Eine 19 %ige Reduktion des Gesamtgehirngewichtes bei nicht verringertem Körpergewicht und eine 15 %ige Verringerung des Kleinhirngewichtes stellten DIAZ und SAMSON (1980) bei Ratten fest, die postnatal mit Alkohol behandelt worden waren.

BARNES und WALKER (1981) beobachteten bei pränataler Alkoholgabe im Hippocampus von Ratten eine Reduktion in der Anzahl der Pyramidenneuronen, PHILIPS und CRAGG (1982 a, 1982 b) Veränderungen an den Purkinjezellen des Kleinhirns von Ratten, BORGES und LEWIS (1983) eine Verringerung der Purkinjezellen und Körnerzellen der inneren Körnerschicht im Kleinhirnwurm der Ratte und eine signifikante Zunahme von Pyknosen in der äußeren Körnerschicht.

4. Fragestellung

Die vorliegende Arbeit versucht einige Aspekte der verzögerten Hirnreifung in der Postnatalperiode von Nachkommen alkoholbehandelter Ratten zu beleuchten.

- Wie wirkt sich im Tierexperiment die regelmäßige Gabe von Alkohol auf Struktur und Ultrastruktur der Kleinhirnhistogenese aus?
- Sind etwaige Veränderungen reversibel und ergeben sich somit Analogien zur menschlichen Alkoholembryopathie?
- Korrelieren Ergebnisse von parallel zu den licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen laufenden tierexperimentellen Versuchen zur motorischen Entwicklung mit morphologischen cerebellaren Veränderungen?

In diesem folgenden Teil der Arbeit wird an den jeweils entsprechenden Stellen sowie zur Klärung insbesondere der o. g. dritten Fragestellung auf die tierexperimentellen Versuche bzw. deren Ergebnisse Bezug genommen.

In diesem Zusammenhang seien noch einige Anmerkungen zur Problematik tierexperimenteller Versuchsmodelle angeführt: Abgesehen von der grundsätzlichen Frage nach der Übertragbarkeit von Ergebnissen tierexperimenteller Arbeiten auf humane Bedingungen und umgekehrt der Entwicklung von Versuchsaufbauten auf der Grundlage einer Definition den Menschen betreffender Problemkomplexe sind folgende grund-

legende Unterschiede festzuhalten:

- die unterschiedliche Kinetik der Metabolisierungsrate bei Mensch und Tier;
- eine im Tierexperiment schwer reproduzierbare Chronizität in der Alkoholzufuhr, wie es bei der menschlichen Alkoholkrankheit häufig der Fall ist;
- die unterschiedliche Histogenese des Kleinhirns bei Mensch und Versuchstier (vgl. DAVISON und DOBBING, 1968; Abb. 1).

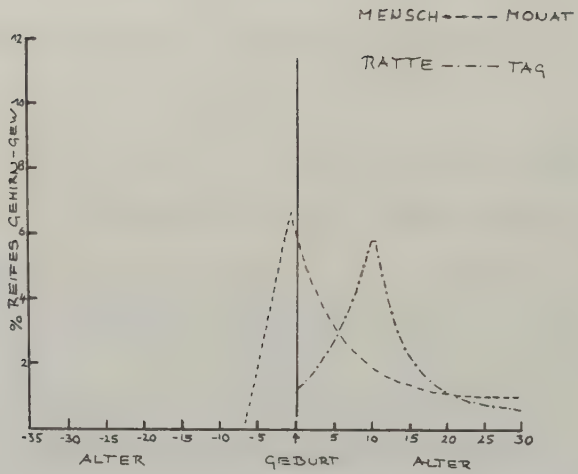


Abb. 1: Auftreten des sog. "growth spurt" im ZNS der Ratte und beim Menschen. Bei der Ratte "growth spurt" postnatal; beim Menschen prae- und postnatal.
(Mod. nach DAVISON und DOBBING, 1968)

5. Aspekte des Alkoholstoffwechsels

Wir möchten an dieser Stelle keine vollständige Darstellung der sehr komplexen Biochemie des Alkoholstoffwechsels liefern, uns vielmehr auf die Metabolisierung des Äthylalkohols in der Leber und im Gehirn sowie auf die besonderen Bedingungen während einer Schwangerschaft und einer Chronizität des Alkoholkonsums beschränken.

a. Alkoholabbau in der Leber

Der Äthylalkohol wird über den Magen-Darm-Trakt, beginnend in der Mundhöhle, vor allem im oberen Dünndarm durch Diffusion aufgenommen. Er verteilt sich schnell im ganzen Körperwasser. Seine Verwertung erfolgt zu 90% in der Leber, und zwar durch das Zusammenspiel von zwei Dehydrierungsschritten im Cytosol:

- durch die Alkoholdehydrogenase (ADH) zum Acetaldehyd, gefolgt von
- einer Oxydation zum Acetat durch die Aldehyddehydrogenase.

Beim Menschen und bei der Ratte sind die physikochemischen Eigenschaften der ADH fast gleich. Im Unterschied zum Menschen allerdings ist die Leber-ADH bei der Ratte durch eine besonders hohe Aktivität gekennzeichnet und die Metabolisierungsrate damit deutlich erhöht. Sowohl die ADH als auch die Aldehyddehydrogenase sind NAD (Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid)-abhängig. Im untergeordneten Umfang kann auch eine Alkoholdehydrierung durch die Leberkatalase erfolgen.

Die Oxydation des Alkohols findet fast nur in der Leber statt.

Ein weiteres in der Leber sowohl des Menschen als auch der Ratte lokalisiertes Enzymsystem ist das sich im rauen endoplasmatischen Retikulum (rER) der Leberzelle befindende mikrosomale alkoholoxydierende System (MEOS). Dieses MEOS oxydiert Alkohol über NADP (Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat).

Sowohl beim Versuchstier als auch beim Menschen proliferieren nach chronischer Alkoholgabe die rER (vgl. LANE und LIEBER, 1968).

b. Alkoholabbau im Gehirn

Alkohol erreicht, nachdem er schnell und ungehindert die Blut-Hirn-Schranke passiert hat, im Gehirngewebe Werte, die in etwa dem Blutalkoholspiegel entsprechen. Es finden sich allerdings Unterschiede in einzelnen Hirnarealen, z. B. besonders hohe Werte im Kleinhirn (ERICKSON, 1976). Umstritten ist nach wie vor die Frage, ob Äthanol im ZNS direkt metabolisiert wird.

Ein cerebrales Vorkommen der ADH wurde von RASKIN und SOKOLOFF (1968, 1974) nachgewiesen. Die Oxydationskapazität des Gehirns ist im Vergleich zur Leber minimal. Geklärt ist noch nicht, inwieweit peripher oder zentral gebildetes Acetaldehyd in den zentralen Stoffwechsel eingreift und welche Veränderungen dort verursacht werden.

c. Besonderheiten bei Schwangerschaft/Alkoholchronizität

Alkohol kann ungehindert über die Plazentaschranke in den embryo-fetalen Kreislauf gelangen. Da die Metabolisierungsfähigkeit der kindlichen Leber zu diesem Zeitpunkt äußerst beschränkt ist, kann sich Alkohol in hohen Konzentrationen ansammeln. VEGHELYI et al. (1978) konnten z.B. bei Feten und im Nabelschnurblut von Neugeborenen Konzentrationen von Acetaldehyd nachweisen. Gleichzeitig fanden sie bei chronischen Alkoholikerinnen Acetaldehyd in drei- bis viermal höheren Konzentrationen als bei Nichttrinkerinnen, die vor der Messung eine gleich hohe Dosis Alkohol zu sich genommen hatten (VEGHELYI et. al., 1978).

6. Anatomie

Die Histogenese des Kleinhirn wurde bereits 1911 von ADDISON detailliert bei Albino-Ratten bis zum Tag 110 postnatal beobachtet. Da ADDISON Sagittalschnitte aus dem Gebiet der Fissura prima im medianen Wurm des Kleinhirn als Untersuchungsmaterial heranzieht, was auch unserem methodischen Vorgehen entspricht, möchten wir uns in unserer Darstellung der postnatalen Entwicklung des Kleinhirn auf lichtmikroskopischer Ebene im wesentlichen auf diese Arbeit beziehen.

Bei der Betrachtung der Ultrastruktur der Purkinjezellen des Kleinhirn orientieren wir uns an den Arbeiten von ALTMAN (1969, 1972 a-c), der allerdings Sagittalschnitte der Pyramis-Region von Rattenhirnen verwendet.

In diesem Zusammenhang seien die regionalen Unterschiede in der postnatalen Reifung des Kleinhirn erwähnt: der Kleinhirnwurm zeichnet sich durch eine besonders schnelle Reifung aus; innerhalb des Kleinhirnwurms sind die schneller sich entwickelnden Areale: Lingula, vordere Centralis, Nodus, hintere Uvula und Fissura prima; langsamer reifende Teile sind: vorderes Culmen, Pyramis und hintere Tuber-Region.

a. Histogenese der Purkinjezellen (Lichtmikroskopie)

Geburt: Die Purkinjezellen sind bei der Geburt in zwei bis drei Reihen unregelmäßig unterhalb der

Molekularschicht angeordnet. Sie fallen auf durch einen großen, ovalen Kern, der 1-2 Nucleoli enthält, und ein schmales Cytoplasma, welches feine kurze Fortsätze über die Molekularschicht hinweg aussendet.

3. Tag: Die Zellen verteilen sich in 1-2 unregelmäßigen Reihen. Sie zeigen eine deutliche Größenzunahme des Cytoplasma am apikalen Zellpol, von dem jetzt häufig mehr als 5 Fortsätze in die verschiedenen Richtungen ausgehen.

5. Tag: Die Zellen haben erneut ihre Position verändert und formen eine "monolayer", d.h. eine Schicht, in der die Purkinjezellen in einer Reihe geordnet nebeneinander liegen. Die Zellkerne liegen basal.

8. Tag: Die Zellen haben sich weiter vergrößert, zeigen aber nach wie vor dasselbe Aussehen wie am Tag 5. In einigen Zellen hat das apikale Cytoplasma eine konische Form angenommen. Am Ende des Konus finden sich mehrere feine Fortsätze. Bei einigen wenigen Zellen ist die Zellentwicklung noch weiter fortgeschritten: der Zellkörper ist abgerundet, hat einen kräftigen Dendriten mit feinen Fortsätzen an der Spitze.

10.Tag: Alle Zellen haben die oben beschriebene Form angenommen. Die Zellkerne haben zu diesem Zeitpunkt ihre durchschnittliche Größe erreicht. Die Zellkörper wachsen weiter.

14. Tag: Die Zellkörper sind sphärisch und zeigen einen Dendriten, der sich im allgemeinen bald in zwei Dendriten aufteilt. Diese geben zahlreiche sich verästelnde Fortsätze ab.

21. -

25. Tag: Weitere Ausdifferenzierung des Dendritenbaumes; die Molekularschicht erhält ihr charakteristisches Aussehen.

b. Histogenese der Purkinjezellen (Elektronenmikroskopie)

1.-4. Tag: Die bei der Geburt zum überwiegenden Teil noch stark unregelmäßig gelappten Zellkerne bekommen ein regelmäßigeres Aussehen; das Cytoplasma vergrößert sich in apikaler Richtung; es gibt nur wenige synaptische Kontakte mit dem Zellsoma; Zellorganellen sind spärlich vorhanden.

5.-9. Tag: Es kommt zu einer Vergrößerung der apikalen Zellsomata mit Vermehrung der Mitochondrien und Vergrößerung des Golgikomplexes. Auch das rauhe endoplasmatische Retikulum sammelt sich apikal. Bis zur Differenzierung der primären Dendriten nimmt die Anzahl der Zellorganellen, die im Rahmen der Plasmabewegung in den Dendritenbaum ausgeschleust werden, in dieser Region zu.

10.-14.Tag: Das raue endoplasmatische Retikulum entwickelt sich weiter. Die Zellkerne runden sich ab. Aus einem vorübergehend sich ausbildenden apikalen Konus wachsen der Dendrit und einige kleine Äste, welche mit Mitochondrien und agranulären Vesikeln gefüllt sind. Es existieren wenige synaptische Verbindungen zwischen Parallelfasern und Dendriten der Purkinjezellen.

3. Woche: Das Perikaryon der Purkinjezellen hat ein reifes Aussehen, d.h. es ist rund geformt, ist mit membrangebundenen Ribosomen angefüllt und zeigt keine perisomatischen Fortsätze mehr. Synaptische Verbindungen zwischen Dendriten und Parallelfasern nehmen weiter zu.

3. Histogenese der Körnerzellschicht (Lichtmikroskopie)

Bei der neugeborenen Ratte ist die äußere Körnerschicht im Bereich der Fissura prima 6-8 Zellreihen dick.

Charakteristischerweise lassen sich in dieser Schicht zwei verschiedene Zonen unterscheiden: eine äußere Zone - ALTMAN nennt sie "proliferative zone" (Proliferationszone) (1972 a) - welche 1-3-Zellreihen umfaßt und eine innere - nach ALTMAN (1972 a) die "premigratory zone" (Praemigrationszone).

Bis zum 8. Tag postnatal nimmt die äußere Körnerschicht

an Dicke zu, so daß man in der Mitte der zweiten Lebens-
woche eine Schichtdicke von 8-10 Reihen sieht. Diese
Zunahme der Zellzahl schlägt sich ausschließlich in einer
vergrößerten praemigratorischen Zone nieder; die proli-
ferative Zone nimmt nicht zu. Sie enthält die sog. Stamm-
zellen, welche eine hohe Mitoserate aufweisen.

Durch autoradiografische Untersuchungen konnte ALTMAN
(1972 a) eine Zellbewegung zwischen proliferativer und
praemigratorischer Zone nachweisen.

Die äußere Körnerschicht verschmälert sich und ist im
Bereich der Fissura prima am 21. Tag nicht mehr nachweis-
bar, während sich im Bereich der Fissura secunda zu diesem
Zeitpunkt noch 1-2 Zellreihen mit mitotischer Aktivität
befinden.

Der tierexperimentelle Teil der vorliegenden Arbeit wurde gemeinsam mit den Doktoranden Frowin Haas und Manfred Radtke von Mai bis September 1980 in den Tierställen des Embryonal-pharmakologischen Instituts der Freien Universität Berlin durchgeführt, der licht- und elektronenmikroskopische Teil der Arbeit als Einzelarbeit 1981/82 am Institut für Neuro-pathologie, WE 15, am FB 02 und am Anatomischen Institut, WE 01, des FB 01 der Freien Universität Berlin.

Zu danken haben wir für die Übernahme, Betreuung und Beratung dieser Arbeit den Institutsdirektoren:

Herrn Prof. Dr. Jorge Cervós-Navarro

Herrn Prof. Dr. Diether Neubert

Herrn Prof. Dr. Hans-Joachim Merker

8 Material und Methoden

1. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten 80 weibliche Wistar-Ratten, deren Ausgangsgewicht sich durchschnittlich zwischen 200 und 250 g bewegte.

Männliche Wistar-Ratten wurden nachtweise mit den Versuchstieren zusammengebracht. Ein positiver Spermien-nachweis durch Vaginalabstrich am nächsten Morgen wurde jeweils als Tag 1 der Schwangerschaft gewertet.

Von diesem Zeitpunkt an wurden je zehn weibliche Tiere in Makrolonkäfigen Typ IV zusammengehalten. Jedes Tier wurde am Schwanz markiert, um später eine eindeutige Zuordnung während des gesamten Versuchs zu ermöglichen.

2. Tierstallbedingungen

Die Tierställe des Embryonalpharmakologischen Instituts sind vom übrigen Teil des Instituts durch eine Doppelschleuse mit Zwangsdusche vollständig getrennt.

Spezifische Versuchsbedingungen in einem kontrollierten Milieu sind durch sterile Arbeitskleidung und Autoklavierung aller mitgeführten Versuchsgegenstände gewährleistet.

In den Tierställen herrscht ein automatisch geregelter Tag/Nacht-Rhythmus (9 Stunden Tag- 9 bis 18 Uhr -/ 15 Stunden Nacht); Temperatur und Luftfeuchtigkeit wer-

den konstant gehalten; Füttern und Wiegen geschieht zu festgesetzten Zeiten. Durch diese Maßnahmen werden die Tiere störenden Einflüssen weitgehend entzogen.

3. Ernährung

Vom ersten Tag der Schwangerschaft bis zum Werfen wurde den 50 Versuchstieren und den 30 Kontrolltieren die vollwertige Flüssigkeitsnahrung "Stardit" (Tab. 2) ad libitum verabreicht. Die Nahrungsbestandteile waren somit dem Bedarf der Ratte optimal angepasst, ein eventuelles Kalorien- oder Nährstoffdefizit weitgehend ausgeschlossen.

Bei den 50 Versuchstieren wurde "Stardit" so angesetzt, daß pro 100 Kcal der Nahrung 35% durch 98%igen Äthylalkohol ersetzt wurden (dies entspricht einer 12%igen Alkohollösung). Die Futtermengen wurden täglich frisch hergestellt, der tägliche Verbrauch registriert.

Die Tiere wurden jeden zweiten Tag gewogen. Um eine Störung des Tag/Nacht-Rhythmus bei den Tieren auszuschließen, wurde der Nahrungswechsel täglich zwischen 10 und 11Uhr vorgenommen.

Am 16. Schwangerschaftstag wurden die Tiere in Einzelkäfige (Makrolon Typ III) umgesetzt.

Die Versuchstiere warfen am Tag 22 und 23 p.c.

Um im Sinne der o.g. Fragestellung dieser Arbeit einen postnatalen Alkoholeinfluß auszuklammern, wurde vom Augenblick der Geburt der Nachkommen an die Stardit/Alkohol-Gabe beendet und stattdessen die laborübliche Normaldiät für Ratten

(Altromin 1324) verabreicht.

STARDIT[®]N

AUFBAUNAHHRUNG

proteinreich, fettarm, vitaminreich
leicht verdaulich und gut verwertbar

100 g STARDIT[®]N Pulver enthalten:

Protein	22.3 g
Fett	3.2 g
Kohlenhydrate	64.1 g

Mineralstoffe (Asche)

davon	
Eisen	3.8 mg
Calcium	830 mg
Phosphor	655 mg
Natrium	356 mg
Kalium	1020 mg

Die Analysenwerte unterliegen den bei
Naturprodukten üblichen
Schwankungen

Mineral- und Vitaminzusatz auf 100 g STARDIT[®]N Pulver:

α -Tocopherylacetat	5.0 mg
Natrium-L-ascorbat	37.0 mg
Thiamin-chlorid-hydrochlorid	1.1 mg
Riboflavin	1.1 mg
Pyridoxin-hydrochlorid	1.1 mg
Nicotinamid	11.0 mg
Calcium-D-pantothenat	4.4 mg
Cyanocobalamin	0.4 μ g
Eisen (II)-sulfat getr.	10.5 mg

100 g STARDIT[®]N entsprechen
1590 kJ (374 kcal) -
BE = 5.3

Flüssigkeitsnahrung "Stardit" (Tab. 2)

4. Versuchsgruppen

Um alkoholbedingtes Fütterungsverhalten der Muttertiere differenziert erfassen zu können, wurde unmittelbar nach der Geburt ein Teil der Mütter aus der Kontrollgruppe von ihren eigenen Jungtieren entfernt und zu gleich großen Würfen von Alkoholmüttern gebracht.

Es standen in der folgenden postnatalen Phase der Untersuchung damit insgesamt vier Gruppen zur Verfügung:

Alkoholmütter mit Alkoholjungen

Kontrollmütter mit Kontrolljungen

Alkoholmütter mit Kontrolljungen

Kontrollmütter mit Alkoholjungen.

In diesem Teil der Arbeit finden allerdings lediglich die beiden ersten Gruppen Berücksichtigung.

5. Messungen und Beobachtungen

a. Daten zur Gewichtsentwicklung

Die Neugeborenen wurden sowohl einzeln als auch als gesamter Wurf vom Tag der Geburt bis Tag 10 postnatal täglich gewogen. Dabei war jeder Wurf, nicht aber das Einzeltier gekennzeichnet.

Ab Tag 10 wurden die Tiere jeden zweiten Tag gewogen. Am Tag 21 wurden die Würfe von den Muttertieren getrennt und von da an erneut täglich gewogen, und zwar bis Tag 30; danach am Tag 40, 60 und 90.

Der Wiegevorgang diente auch der Feststellung des Zeitpunktes der Fellentwicklung, des Öffnens der Augen und weiterer Auffälligkeiten, die nicht Bestandteil dieser Arbeit sind.

b. Mortalität

Totgeburten und postnatale Mortalität wurden von Tag 0 bis Tag 30 notiert. Ausgenommen werden mußten dabei die Tiere, die im Rahmen der morphologischen Untersuchungen getötet wurden.

c. Gehirngewicht

Vor der weiteren Aufarbeitung des Cerebellum wurde bei jedem getöteten Tier das Gehirngewicht ermittelt. Sowohl die absoluten als auch die relativen Gehirngewichte, als Quotient von Gehirngewicht und Körpergewicht, wurden miteinander verglichen.

d. Schwimmtest

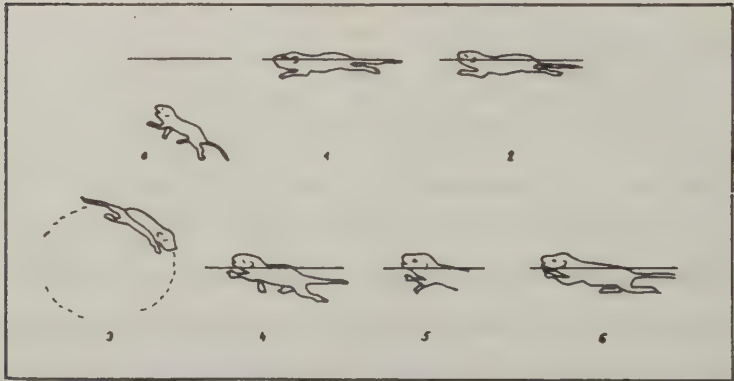
In der hier vorliegenden Arbeit verzichteten wir auf die Darstellung der im tierexperimentellen Teil der Untersuchung durchgeführten Koordinations- und Motilitätstests; eingegangen werden soll allerdings in Hinblick auf die dritte Fragestellung dieser Arbeit (s. dort) auf den Schwimmtest, der in Anlehnung an HACKER und KLAUS (1978), die mit Mäusen als Versuchstiere arbeiteten, modifiziert durchgeführt wurde.

Ziel dieses Schwimmtests war die Abgrenzung einzelner Stadien des Schwimmverhaltens (Stadium 1-6) bis zur Ausbildung des Schwimmvermögens eines erwachsenen Tieres, i.e. adultes Schwimmen (vgl. Abb. 2 und Tab. 3).

Vom 4. bis zum 18. Tag postnatal wurde täglich eine randomisierte Gruppe von Würfen getestet, insgesamt 82 Alkohol- und 62 Kontrolltiere, die immer als Gesamtwürfe am Versuch beteiligt waren. Jedes Tier wurde täglich von einer Hilfsperson einzeln und hintereinander aus etwa 5 cm Höhe in 27°C warmes Wasser eines Beckens fallen gelassen und die Schwimmleistung beobachtet.

Bei der Versuchsdurchführung war zur Ausschaltung subjektiver Einflüsse der Beurteilende nicht identisch mit der o.g. Hilfsperson, d.h. es war dem Beurteilenden nicht bekannt, ob es sich jeweils um ein Alkohol- oder um ein Kontrolltier handelte.

Schematische Darstellung der Schwimmstadien



(Abb. 2 / Tab. 3)

- STADIUM 0: DAS TIER ERREICHT NICHT DIE WASSEROBERFLÄCHE.
- STADIUM 1: DAS TIER ERREICHT DIE WASSEROBERFLÄCHE, DIE NASENÖFFNUNGEN VERBLEIBEN ABER UNTER WASSER (LUFTBLÄSCHEN BEIM AUSATMEN). DIE BEWEGUNGEN DER EXTREMITÄTEN SIND UNKOORDINIERT, WAS ZU EINER TAUMELNDEN ODER KREISELNDEN BEWEGUNG FÜHRT.
- STADIUM 2: DIE NASENÖFFNUNGEN WERDEN ÜBER DAS WASSER GEHOBen. TAUMELNDES SCHWIMMEN DURCH UNKOORDINIERT BEWEGUNGEN.
- STADIUM 3: "KREISBAHNSCHWIMMEN". DIE BEINBEWEGUNG IST KOORDINIERT, JEDOCH ÜBERWIEGT DIE AKTIVITÄT EINER KÖRPERSEITE. MANCHE TIERE WECHSELN DIE RICHTUNG.
- STADIUM 4: "RICHTUNGSSCHWIMMEN". DIE VOLLE, KOORDINIERT AKTIVITÄT BEIDER VORDER- UND HINTEREXTREMITÄTEN FÜHRT ZU EINEM ZÜGIGEN SCHWIMMEN IN EINER RICHTUNG.
- STADIUM 5: NACHLASSEN DER AKTIVITÄT DER VORDEREXTREMITÄTEN. ZEITWEISE WIRD EINE VORDEREXTREMITÄT OHNE BEWEGUNG UNTERS KINN GELEGT, WÄHREND DIE ANDERE VOLL AKTIV IST. DADURCH KOMMEN WIEDER TAUMELNDE SCHWIMMBEWEGUNGEN ZUSTANDE.
- STADIUM 6: "ADULTES SCHWIMMEN". DIE VORDEREXTREMITÄTEN LIEGEN BEWEGUNGSLOS UNTER DEM KINN.

6. Präparation und Fixationsmethoden

Generell wurden am 1., 4., 8., 12., 16., 21. und 40. Tag post partum jeweils 3 Alkoholtiere und 3 Kontrolltiere unter intraperitonealer Nembutal-Narkose getötet. Die dafür benötigten Versuchstiere wurden über Randomisierung ausgewählt, der jeweils zugehörige Wurf vollständig aus dem Versuch genommen.

Über das linke Herz (linker Ventrikel) und die aufsteigende Aorta wurden die Tiere mit KARNOVSKY-Lösung perfundiert:

12,5%iges Glutaraldehyd

3%iges Paraformaldehyd

0,2 molarer NaCl-Puffer

Calciumchlorid (vgl. KARNOVSKY, 1965)

Zuvor wurde jeweils 60 Sekunden lang zwecks Gefäßdilatation und Gerinnungshemmung Natriumnitrit bzw. Heparin in den linken Ventrikel gespritzt.

Nach Beendigung der Perfusion (ca. 10 Minuten) wurden die Gehirne präpariert und das Kleinhirn abgetrennt.

Nach dem Waschen in Puffer und Kontrastierung in Osmiumtetroxyd wurden die Gewebestückchen in einer aufsteigenden Alkoholreihe und schließlich in Aceton entwässert.

Danach wurden sie in nummerierte Gelatine-Kapseln mit Araldit-Gebrauchslösung eingebettet. Nach der Polymerisation des Kunstharzes und des Materials (48 Stunden bei 60°C) wurden einzelnen Blöcke zum Anschneiden getrimmt und Semidünnschnitte (0,5 - 1,0 μ) angefertigt.

Diese nach RICHARDSON (1960) Methylenblau-gefärbten Schnitte wurden mikroskopisch ausgewertet. Nach Anfertigung von Pyramiden auf der Schnittfläche des Materialblöckchens wurden Ultradünnschnitte (500 Å) erstellt. Das anschließend mit Uranylacetat und Bleicitrat kontrastierte Material wurde im Elektronenmikroskop (Zeiss EM 9 bzw. Zeiss EM 10) mikroskopiert und fotografiert.

Es handelt sich bei den Schnitten um Sagittalschnitte aus dem Gebiet der Fissura prima im medianen Wurm des Kleinhirns.

C Ergebnisse

1. Postnatales Wachstum der Jungtiere

a. Mortalität

Für den o.g. tierexperimentellen Teil der Arbeit verblieben nach Abzug der für die morphologischen Untersuchungen getöteten Jungtiere noch 112 Alkohol- und 102 Kontrolltiere. Von den 74 Alkoholtieren, die bei ihrer eigenen Mutter geblieben waren, verstarben bis zum Tag 21, dem Trennungstag von der Mutter, 49, also 66,9%. Von den Kontrolltieren, die bei ihren eigenen Müttern geblieben waren, starb eines, also 1,55%.

38 Alkoholtiere bekamen Kontroll-Ammen (s.o.); von diesen Jungtieren verstarb keines. Von den 38 Kontrolltieren, welche Alkohol-Ammen beigegeben wurden, starb eines, also 2,6% (vgl. Abb. 3).

Zusammengefaßt beträgt die Mortalität der Alkoholtiere bis Tag 21 49 Jungtiere. Dies entspricht, bezogen auf 112 Versuchstiere am Tag 0, 43,6%. Bei den Kontrolltieren starben 2; auf 102 Tiere bezogen entspricht dies 1,96%. Dieser Unterschied in der Mortalitätsrate ist signifikant.

b. Gewichtsentwicklung

Da in einem anderen Teil dieser Gesamtarbeit (vgl. HAAS, 1982) sehr ausführlich und unter Einbeziehung differen-

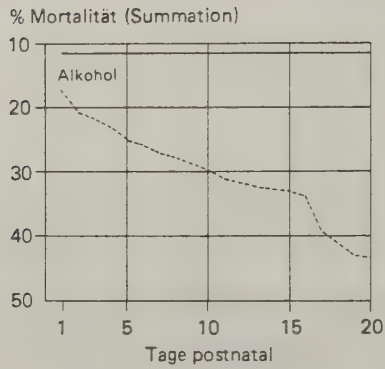


Abb. 3: Vergleichende Darstellung
der kumulativen Mortalität.

Alkohol= - - - - -

Kontrolle= —————

zierter statistischer Methoden auf diesen Aspekt eingegangen wird, im folgenden nur eine Zusammenfassung der Gewichtsdaten:

Ein Vergleich der mittleren Körpergewichte gleicher Wurfgrößen der Alkoholtiere mit Kontrolltieren ergibt für die Mehrzahl der Tage keinen signifikanten Unterschied.

Erst über die Errechnung der Regressionen der Gewichtsentwicklung und die Erstellung der Regressionsgeraden aller im Test befindlicher Vergleichsgruppen läßt sich nachweisen, daß sich die Gewichtsentwicklung aller Wurfgrößen signifikant unterscheidet. Dabei schneiden die Alkoholjungen, die bei der eigenen Mutter geblieben sind, am schlechtesten ab, gefolgt von den Alkoholjungen, die einer Kontroll-Amme übergeben wurden; es folgen die Kontrolljungen, die einer Alkohol-Amme zugeordnet wurden; die günstigste Gewichtsentwicklung verzeichnen die Kontrolltiere, die bei ihrer eigenen Mutter geblieben sind (Abb. 4 und 5).

c. Gehirngewichte

Die Gehirngewichte der am Tag 1, 4, 8, 12 und 30 getöteten Jungtiere wurden gewogen und in ein Verhältnis zum Gesamtkörpergewicht gesetzt. Es stellte sich heraus, daß für alle untersuchten Tage sowohl das absolute als auch das relative Gehirngewicht geringer bei den Alkoholtieren ist (Abb.6).

Darüber hinaus verglichen wir die Gehirngewichte ausgewählter Tiere beider Gruppen mit gleichem Körpergewicht. Auch hier schnitten die Alkoholtiere deutlich schlechter ab (Abb.7).

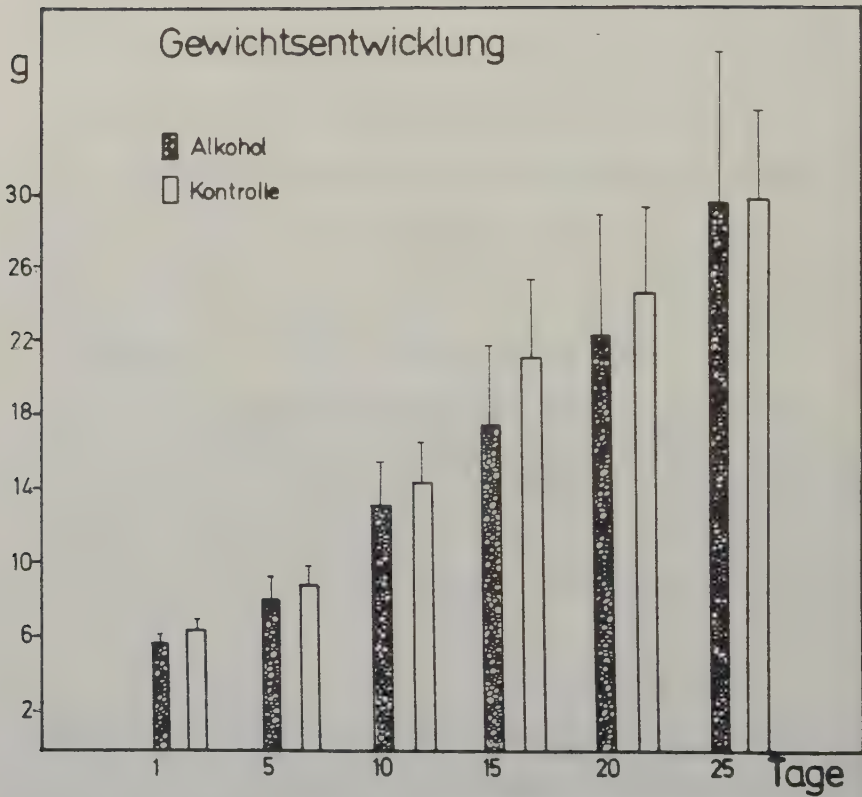


Abb. 4: Gewichtsentwicklung - vergleichende Darstellung aller Alkohol- und Kontrolltiere, Tag 1 bis Tag 25.

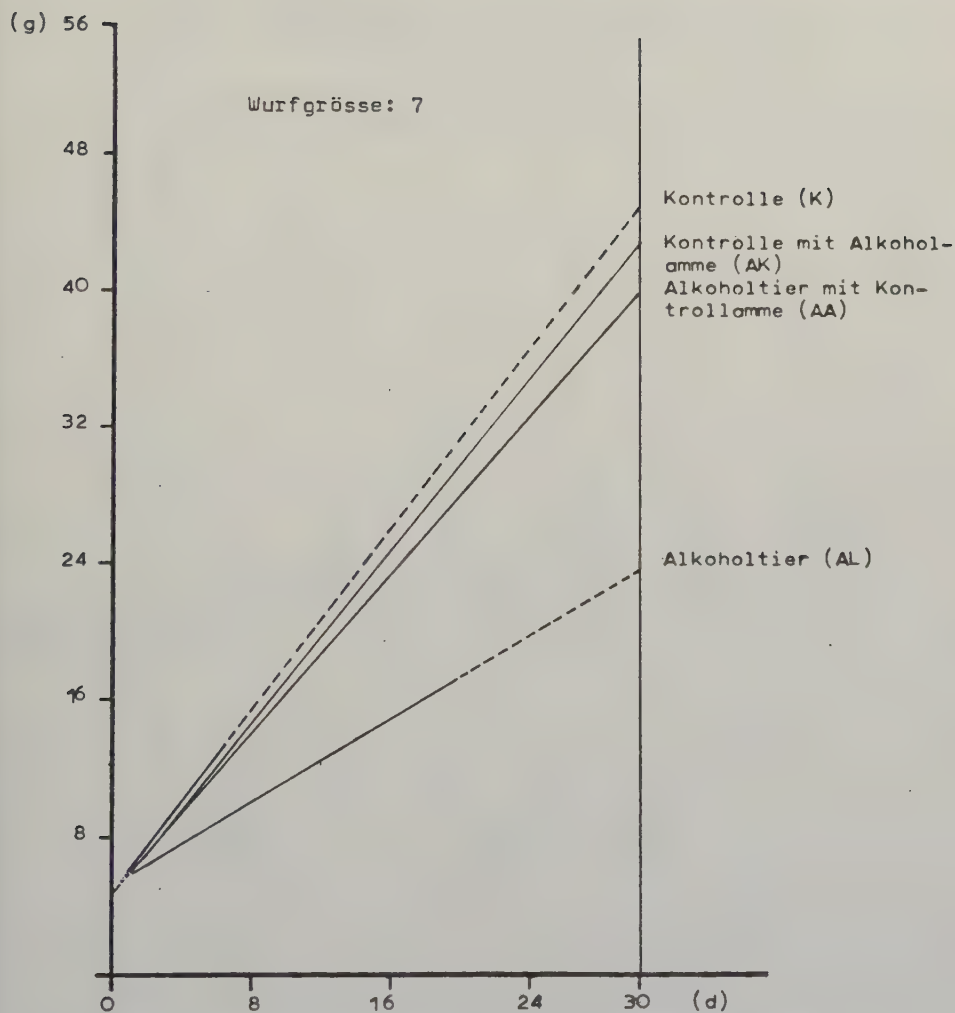
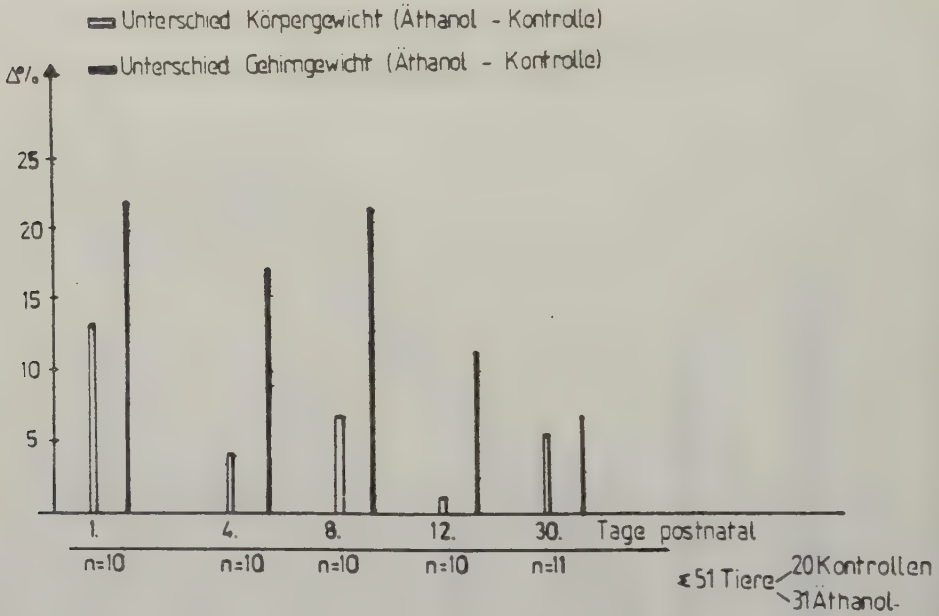
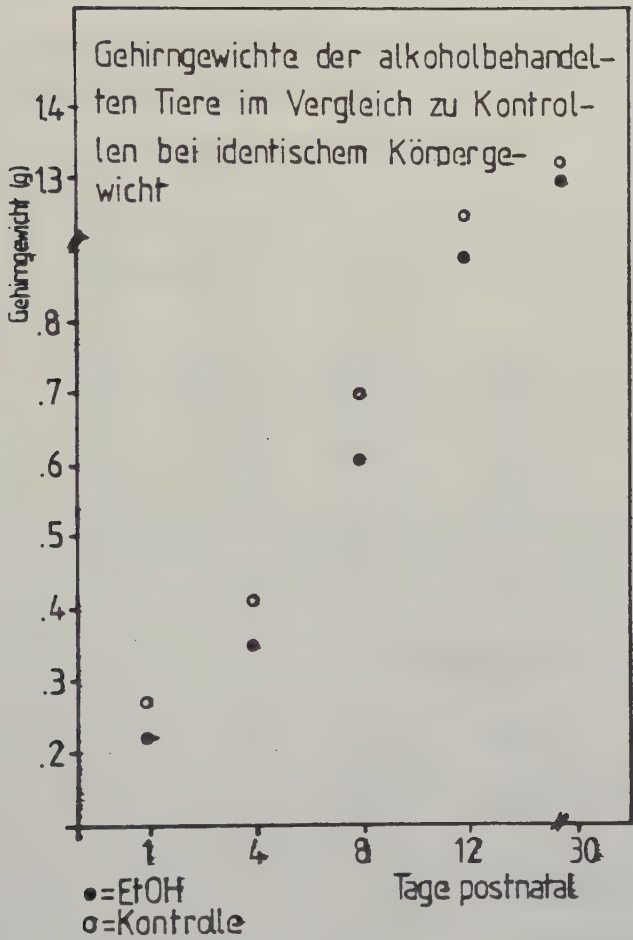


Abb. 5: Gewichtsentwicklung - Regressionsgeraden einer
Wurfgrösse amsstabsgerecht übereinander projiziert.

Entwicklung des Gehirn- und Körpergewichtes



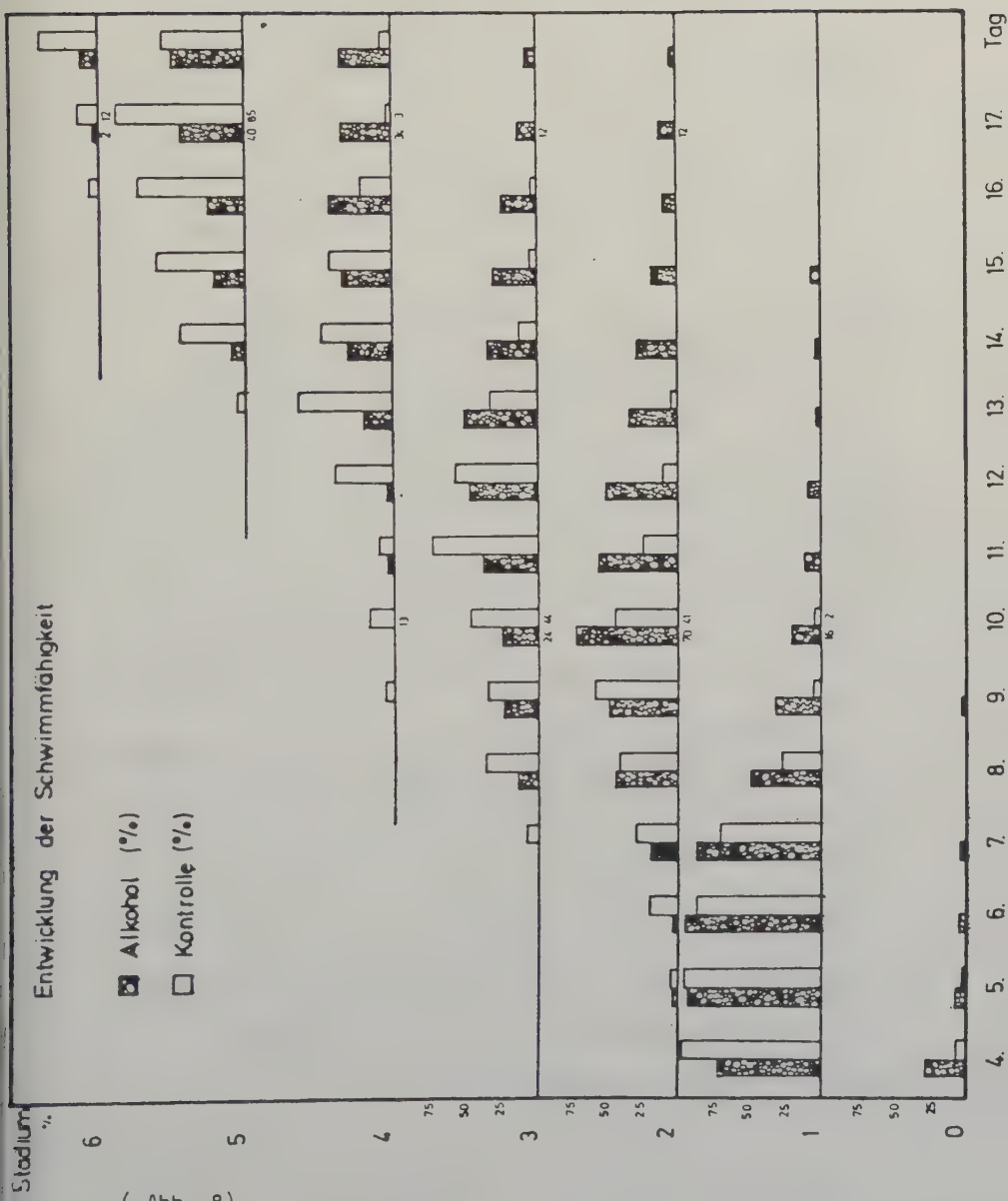
(Abb. 6)



(Abb. 7)

2. Schwimmtest

Der Schwimmtest zeigte ein verlangsamtes Lernverhalten der Alkoholtiere. Im Vergleich zu den Kontrolljungen erreichten sie später das entsprechende Stadium; gleichzeitig war die Streuung, i.e. die Verteilung auf die verschiedenen Stadien, am jeweiligen Tag breiter. Ein Teil der Alkoholtiere verharrte am Tag 18 noch immer auf den unteren Stufen 2 und 3 (Abb.8).



(Abb. 8)

3. Histogenese des Kleinhirnwurms (Lichtmikroskopie)

Wir untersuchten Anteile aus dem Kleinhirnwurm, d.h. die Fissura prima.

Aufgrund technischer Schwierigkeiten wurden für Tag 4 und 40 postnatal Celloidin-Präparate gewählt, nicht zuletzt auch, um die im folgenden geschilderten Veränderungen zu verdeutlichen.

Bei den Kontrolltieren sieht man am Tag 4 p.n. eine strukturell dichtere innere Körnerschicht als bei den Alkoholtieren. Dieser Umstand läßt die Schlußfolgerung zu, daß bei den Kontrolltieren mehr Körnerzellen aus der äußeren Schicht in die innere Schicht gewandert sein müssen als bei den Alkoholtieren (s. Abb. 9 a und b).

Der Vergleich der äußeren Körnerschicht bei Alkohol- und Kontrolltieren ist weniger ergiebig, da das Auflösungsvermögen dieser Schnitte nicht ausreicht, um Unterschiede von 2-3 Zellreihen zu demonstrieren.

Bei den Kontrolltieren erkennt man am 8. Tag p.n. Purkinjezellen, die bereits in einer "monolayer" angeordnet sind (Abb. 10 a). Die äußere Körnerschicht hat eine Stärke von 12 Zellreihen, wobei die proliferative Zone deutlich von der praemigratorischen Zone abgegrenzt werden kann. Die proliferative Zone enthält relativ zahlreiche mitotische Zellen. Diese Beobachtung wird bei der Betrachtung größerer Rindenbezirke bestätigt.

Bei den Versuchstieren bietet sich dagegen ein abweichendes morphologisches Bild (Abb 10 b): Die Ausbildung der "monolayer" hat hier noch nicht stattgefunden. Die Purkinjezellen liegen noch relativ ungeordnet zwischen äußerer und innerer Körnerschicht verteilt. Die Zellkerne erscheinen z.T. kleiner als bei den Kontrolltieren. Die äußere Körnerschicht hat eine Stärke von ca. 9 Zellreihen, d.h. sie ist im Vergleich zu den Kontrolltieren reduziert.

Auffällig ist auch die im Gegensatz zu Abb. 10 a verminderte mitotische Aktivität innerhalb der proliferativen Zone.

Auch dieser Eindruck wird bei der Durchsicht anderer.

Areale der Fissura prima bestätigt.

Abb. 11 a zeigt ein 12 Tage altes Kontrolltier. Die Purkinjezellen sind in einer "monolayer" angeordnet und zeigen ein charakteristisches Aussehen.

Die äußere Körnerschicht hat jetzt eine Stärke von 6-7 Zellreihen, befindet sich also schon in der Phase der Abnahme.

Die Molekularschicht ist bereits deutlich ausgeprägt, d.h. es erfolgt hier die Aussprossung der Dendriten.

In Abb. 11 b ist der gleiche Abschnitt des Kleinhirns eines Versuchstiers dargestellt. Die typische "monolayer" der Purkinjezellen ist nach wie vor nicht zu erkennen.

Die Purkinjezellen zeigen immer noch ein relativ unreifes Aussehen: die Zellkerne sind z.B. kleiner und weniger ab-

gerundet als bei den Kontrolltieren.

Die Molekularschicht ist deutlich dünner als bei den Kontrolltieren. Dagegen ist die äußere Körnerschicht noch ca. 9 Zellreihen stark, d.h. es sind noch nicht so viele Zellen aus dieser Schicht in die innere Körnerschicht gewandert wie bei den gleich alten Kontrolltieren.

Am 16. Tag ist noch immer eine geringe Differenz in der Stärke der äußeren Körnerschicht bei Kontroll- (Abb. 12 a) und Versuchstieren (Abb. 12 b) feststellbar. Die Unterschiede im Aussehen und in der Anordnung der Purkinjezellen sind nur gering. Prägnant ist aber die unterschiedliche Dicke der Molekularschicht.

Am Tag 21 sieht man bei den Kontrolltieren in der Fissura prima keine äußere Körnerschicht mehr, d.h. der endgültige reife Zustand ist erreicht (Abb. 13 a). Bei den alkoholbehandelten Tieren ist noch eine einzige Zellreihe der äußeren Körnerschicht verblieben (Abb. 13 b).

Die Purkinjezellen zeigen sowohl bei den Alkohol- (Abb. 14 b) als auch bei den Kontrolltieren (Abb. 14 a) ein reifes Aussehen, wobei sich auch jetzt noch bei den Versuchstieren kleinere Zelldurchmesser und kleinere Zellkerne finden.

Die Molekularschicht ist bei den Kontrolltieren etwas deutlicher ausgeprägt als bei den Versuchstieren.

Am Tag 40 zeigen die Celloidin-Schnitte keinerlei Unterschiede zwischen den Kontroll- und Versuchstieren (Abb. 15 a und b). Die äußere Körnerschicht ist bei beiden

Kleinhirnen im Bereich der Fissura prima verschwunden. Auch die Molekularschicht hat eine identische Dicke. In Bezug auf die Furchungstiefe der Kleinhirnrinde gibt es makroskopisch keine Unterschiede.

4. Histogenese der Purkinjezellen (Elektronenmikroskopie)

Auch im ultrastrukturellen Bereich konnten wir eine verzögerte Reifung der Purkinjezellen nachweisen.

Bei 8 Tage alten Versuchstieren sehen wir ein deutlich strukturärmeres Zytoplasma mit weitaus weniger Zellorganellen (Abb. 16 b) als bei den Kontrolltieren (Abb. 16 a).

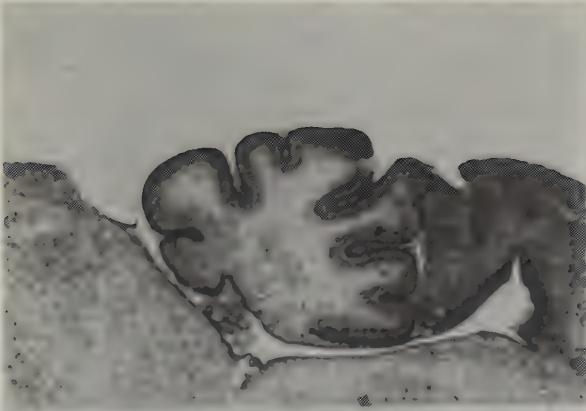
Auch am 12. Tag stellen sich die Zytoplasmastrukturen der Kontrolltiere bedeutend besser ausgereift dar (Abb. 17 a) als die der Versuchstiere (Abb. 17 b). Während man bei den Versuchstieren nur freie Ribosomen sieht, sind bei den Kontrolltieren Mitochondrien und Ausschnittprofile des endoplasmatischen Retikulum reichlich vorhanden.

Die Persistenz der perisomatischen Fortsätze ist ein wesentliches Ergebnis der Golgi-Studie, die in einem anderen Teil dieser Gesamtarbeit dargestellt wird.

Aber auch ultrastrukturell läßt sich dieses Phänomen nachweisen. Bei den Versuchstieren zeigen die Zellsomata der Purkinjezellen am 12. postnatalen Tag noch mehrheitlich perisomatische Fortsätze (Abb. 18 b), während die Kontrolltiere einen glattbegrenzten Zellkörper aufweisen (Abb. 18a). Beide Erscheinungen, d.h. verzögerte Ausbildung der Zytoplasmastrukturen und Persistenz der perisomatischen Fort-

sätze sind an späteren Lebenstagen (Tag 21 und 30)
nicht mehr nachweisbar. Es stellen sich keinerlei Unter-
schiede mehr dar zwischen Kontroll- und Versuchstieren.

a



b

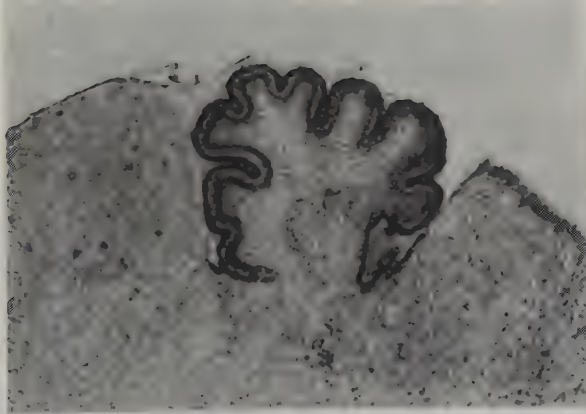
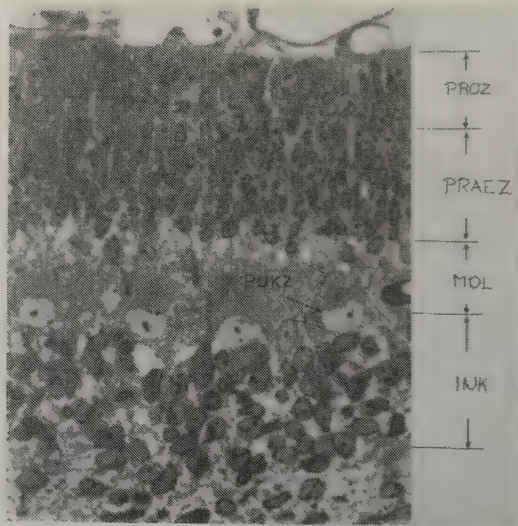


Abb. 9 a: 4 Tage altes Kontrolltier. Medianer Kleinhirnwurm (Fissura prima). Dichte innere Körnerschicht; zellreiche äußere Körnerschicht.

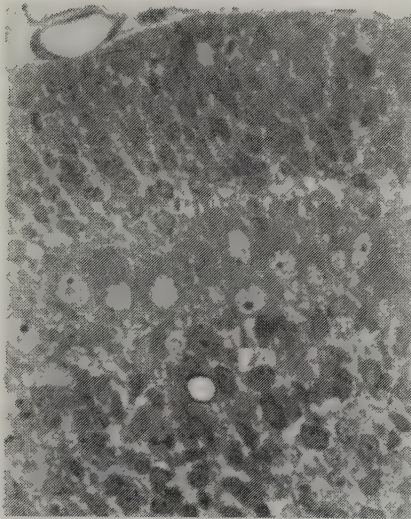
Abb. 9 b: 4 Tage altes Versuchstier. Medianer Kleinhirnwurm (Fissura prima). Schwach ausgebildete innere Körnerschicht. Äußere Körnerschicht abgrenzbar.



a

Abb. 10 a: 8 Tag altes Kontrolltier. Medianer Kleinhirnwurm (Fissura prima). Dichte, ca. 12 Zellreihen starke äußere Körnerschicht. PROZ= proliferative Zone, PRAEZ= praemigratorische Zone. Beachte die "monolayer" der Purkinjezellen (PUKZ). Darunter die innere Körnerschicht (INK).

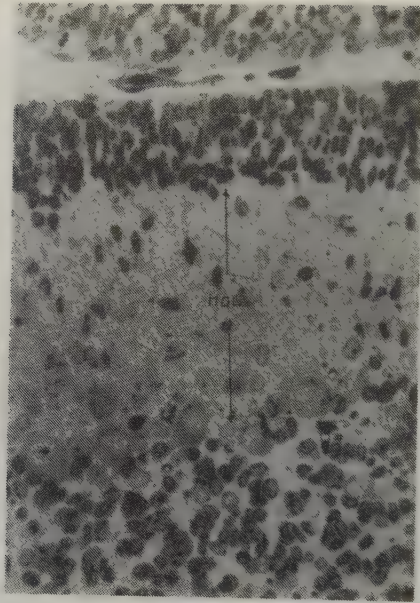
Semidünnschnitt, Methylenblau, 40 x 3,2 x 3



b

Abb. 10 b: 8 Tag altes Versuchstier. Medianer Kleinhirnwurm (Fissura prima). Aufgelockerte äußere Körnerschicht, ca. 9 Zellreihen stark. Keine "monolayer" der Purkinjezellen. Z.T. Purkinjezellen mit kleinen, unreifen Zellkernen.

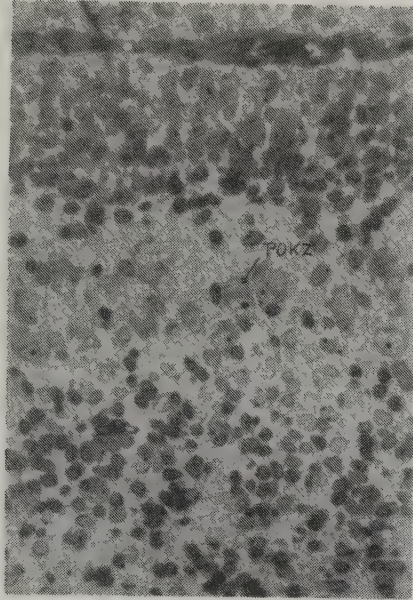
Semidünnschnitt, Methylenblau, 40 x 3,2 x 3



a

Abb. 11 a: 12 Tage altes Kontrolltier. Medianer Kleinhirnwurm (Fissura prima). "monolayer" der Purkinjezellen. Äußere Körnerschicht ca. 6 Zellreihen stark. Breite Molekularschicht (MOL).

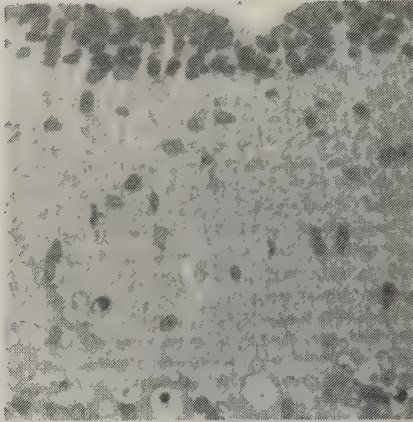
Semidünnschnitt, Methylenblau, 40 x 3,2 x 3



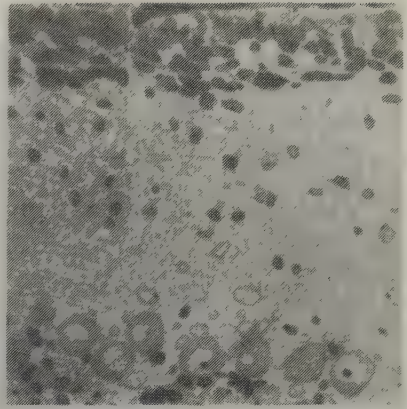
b

Abb. 11. b: 12 Tage altes Versuchstier. Medianer Kleinhirnwurm (Fissura prima). Äußere Körnerschicht 9 Zellreihen stark. Keine "monolayer", schmale Molekularschicht.

Semidünnschnitt, Methylenblau, 40 x 3,2 x 3



a



b

Abb. 12 a: 16 Tage altes Kontrolltier. Medianer Kleinhirnwurm (Fissura prima). Äußere Körnerschicht ca. 4 Zellreihen stark. Breite, voll ausgebildete Molekularschicht. Purkinjezellen auf einer "monolayer", runde, große Zellkerne.

Abb. 12 b: 16 Tage altes Versuchstier. Medianer Kleinhirnwurm (Fissura prima). Äußere Körnerschicht ca. 6 Zellen stark. Schmalere Molekularschicht als bei den Kontrolltieren. Purkinjezellen reif, "monolayer" weniger deutlich als bei den Kontrolltieren.

Semidünnschnitte, Methylenblau, 40 x 3,2 x 3

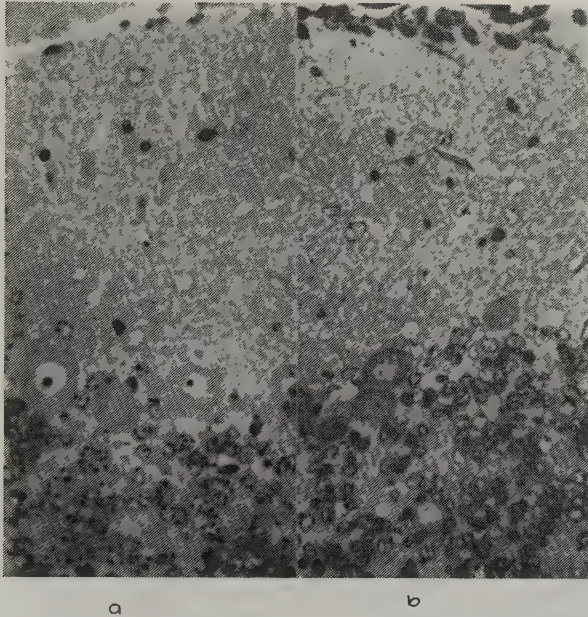


Abb. 13 a: 21 Tage altes Kontrolltier. Medianer Kleinhirnwurm (Fissura prima). Keine äußere Körnerschicht, breite Molekularschicht, "monolayer" der Purkinjezellen.

Abb. 13 b: 21 Tage altes Versuchstier. Medianer Kleinhirnwurm (Fissura prima). Eine Reihe äußere Körnerzellen. Keine eindeutige "monolayer" der Purkinjezellen.

Semidünnschnitte, Methylenblau, 40 x 3,2 x 3

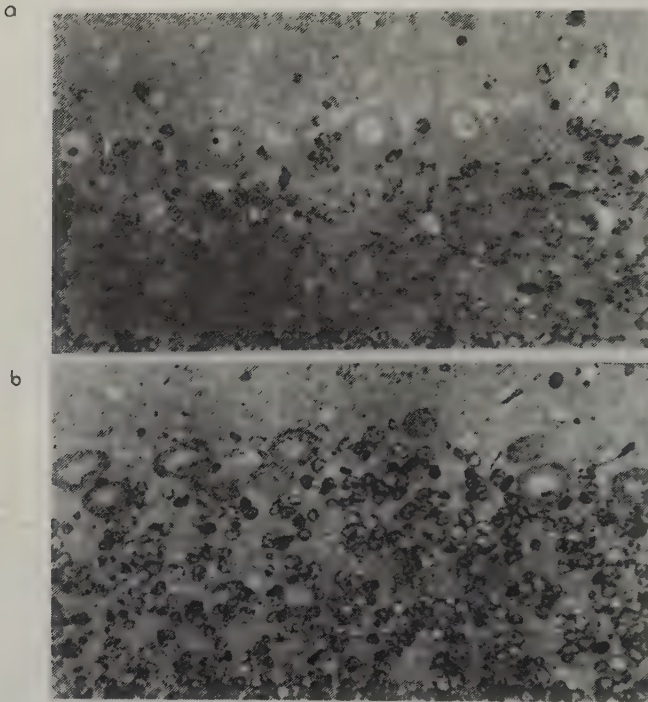
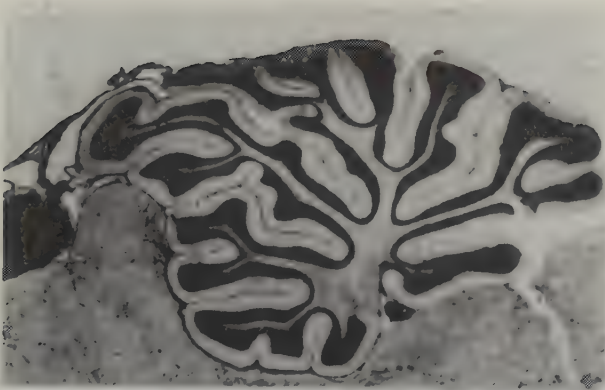


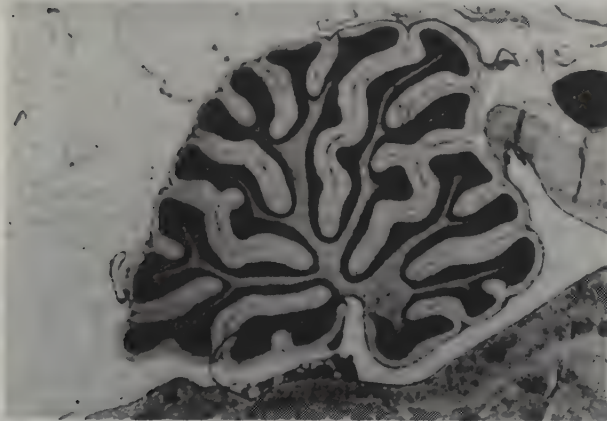
Abb. 14 a: 21 Tage altes Kontrolltier. Medianer Kleinhirnwurm (Fissura prima). "monolayer" der Purkinjezellen.

Abb. 14 b: 21 Tage altes Versuchstier. Medianer Kleinhirnwurm (Fissura prima). Keine eindeutige "monolayer" der Purkinjezellen.

Semidünnschnitte, Methylenblau, 40 x 3,2 x 3



a

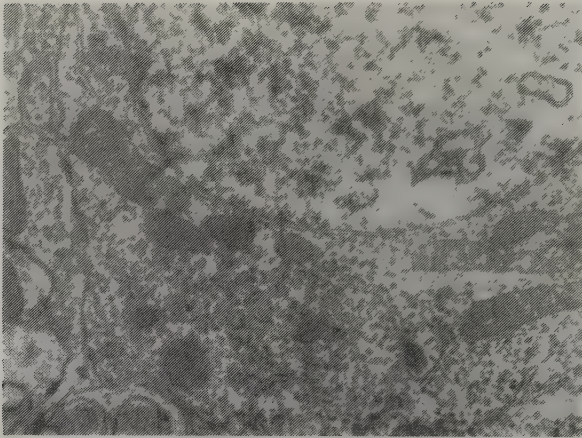


b

Abb. 15 a: 40 Tage altes Kontrolltier. Medianer Kleinhirnwurm (Fissura prima). Keine äußere Körnerschicht mehr.

Abb. 15 b: 40 Tage altes Versuchstier. Medianer Kleinhirnwurm (Fissura prima). Äußere Körnerschicht verschwunden.

Celloidin-Präparate, Nissl-Färbung

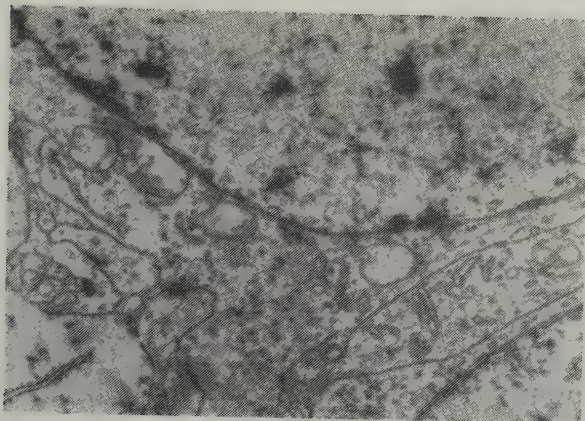


a

EM Aufnahme

Abb. 16 a: 8 Tage altes Kontrolltier. Medianer Kleinhirnwurm (Fissura prima). Purkinjezelle: strukturreiches Zytoplasma mit vielen freien Ribosomen. Mitochondrien und ange deutetes endoplasmatisches Retikulum (ER).

Kontrastierung: Uranylacetat/Bleizitrat, x 12500

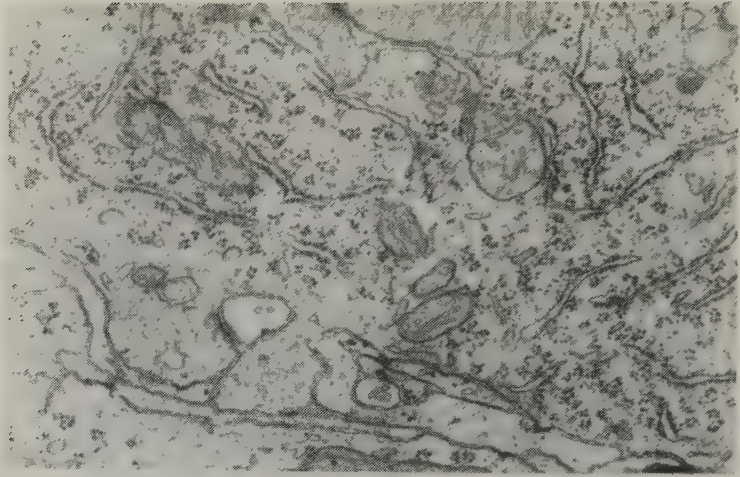


b

EM Aufnahme

Abb. 16 b: 8 Tage altes Versuchstier. Medianer Kleinhirnwurm (Fissura prima). Purkinjezelle: strukturarmes Zytoplasma, wenig Organellen.

Kontrastierung: Uranylacetat/Bleizitrat, x 12500

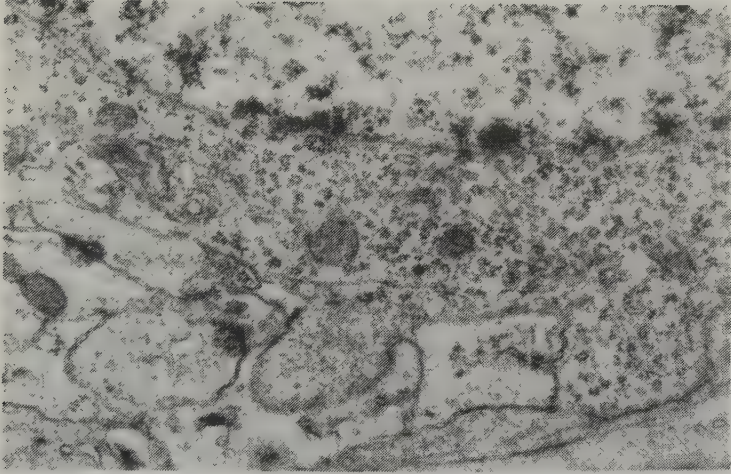


a

EM Aufnahme

Abb. 17 a: 12 Tage altes Kontrolltier. Medianer Kleinhirnwurm (Fissura prima). Purkinjezelle: reife Zytoplasmastrukturen, Mitochondrien, rauhes endoplasmatisches Retikulum, wenig freie Ribosomen.

Kontrastierung: Uranylacetat/Bleizitrat, x 12500

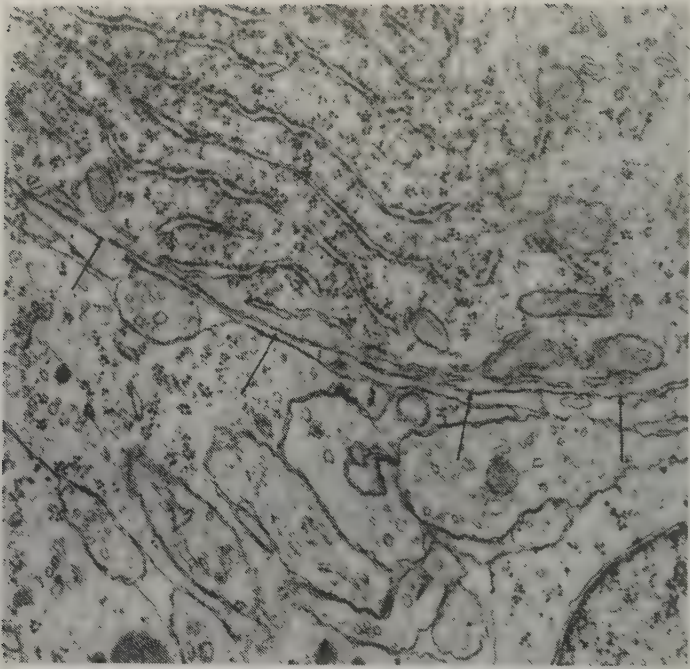


b

EM Aufnahme

Abb. 17 b: 12 Tage altes Versuchstier. Medianer Kleinhirnwurm (Fissura prima). Purkinjezelle: Zytoplasma fast nur mit freien Ribosomen besetzt. Wenig Organellen.

Kontrastierung: Uranylacetat/Bleizitrat, x 12500

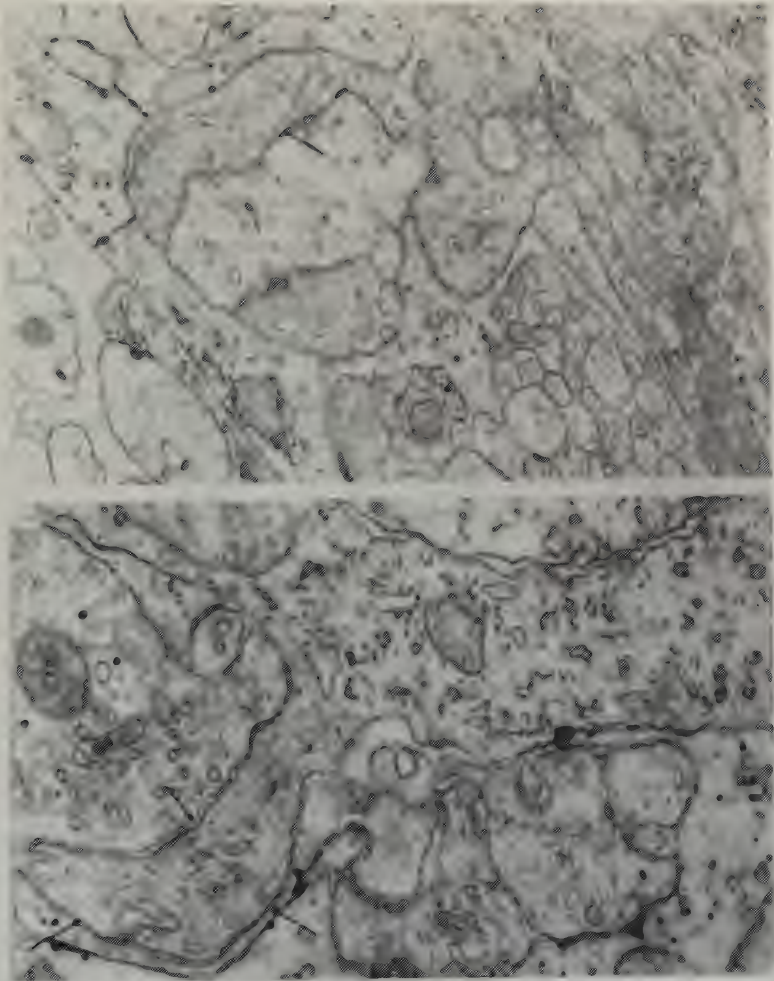


EM Aufnahme

a

Abb. 18 a: 12 Tage altes Kontrolltier. Medianer Kleinhirnwurm (Fissura prima). Purkinjezelle: glattbegrenzter Zellleib ohne perisomatische Fortsätze (siehe Pfeile). Reifstruktutriertes Zytoplasma mit reichlich rauhem endoplasmatischem Retikulum (rER). Wenig freie Ribosomen.

Kontrastierung: Uranylacetat/Bleizitrat, x 12500



EM Aufnahme

b

Abb. 18 b: 12 Tage altes Versuchstier. Medianer Kleinhirnwurm (Fissura prima). Purkinjezelle: persistierende perisomatische Fortsätze (s. Pfeile). Ausschnitte von Zytoplasma mit freien Ribosomen.

Kontrastierung: Uranylacetat/Bleizitrat, x 12500

D Diskussion

Unsere diesen Teil der Gesamtarbeit betreffenden Befunde zeigen, daß Äthylalkohol, der in einer 12%igen Konzentration Ratten während der Tragzeit verabfolgt wurde, bei den Nachkommen eine erhöhte Mortalität, ein verringertes Geburtsgewicht mit konsekutiver Verzögerung der postnatalen Gewichtsentwicklung und eine Hemmung der Kleinhirnhistogenese verursacht.

Ein Korrelat dieser Entwicklungsverzögerung ist auf der motorischen Verhaltensebene eine bei den Versuchstieren beobachtete mangelhafte Schwimmleistung gegenüber den Kontrolltieren, was anhand eines standardisierten Testverfahrens beurteilt wurde.

Die verzögerte postnatale cerebellare Entwicklung stellt sich in den von uns mikroskopierte Kleinhirnarealen - der Fissura prima des Kleinhirnwurms - lichtmikroskopisch im wesentlichen als verlangsamte Reifung der Purkinjezellen, verringerte Dicke der Molekularschicht und Mitose- und Migrationshemmung der äußeren Körnerschicht dar; elektronenmikroskopisch an den Purkinjezellen als verzögerte Ausbildung von Zytoplasmastrukturen und Zellorganellen und Persistenz perisomatischer Fortsätze.

Da Größe, Gewicht und Mortalitätsrate relativ einfach zu messende Parameter sind, existieren zahlreiche Arbeiten, die eben diese Wachstumsindizes untersuchten.

Methodologische Differenzen zwischen den einzelnen Untersuchern - auf die wir hier ggf. eingehen werden - in Hinblick auf den Zeitraum der Alkoholapplikation, die Alkoholdosis, den Applikationsmodus und die verwendete Versuchstierart tragen zu den Schwierigkeiten der Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit von Versuchsergebnissen bei.

Die von uns festgestellte verzögerte Gewichtsentwicklung stimmt mit den Ergebnissen vieler anderer Untersucher überein: PAPARA-NICHOLSON und TELFORD, 1957; PILSTROM und KIESSLING, 1967; TZE und LEE, 1975; ELLIS und PICK, 1976; PHILLIPS und STAINBROCK, 1976; CHERNOFF, 1977; HENDERSON und SCHENKER, 1977; MARTIN et al., 1977; SWANBERG und CRUMPACKER, 1977; THADANI et al., 1977; TITTMAR, 1977; YANAI und GINSBURG, 1977; ABEL, 1978; ABEL und DINTCHEFF, 1978; VOLK et al., 1981.

Eine gesteigerte postnatale Mortalitätsrate beobachten auch PILSTROM und KIESSLING (1967), HENDERSON und SCHENKER (1977), MARTIN et al. (1977), ABEL und DINTCHEFF (1978) und VOLK et al. (1980).

Wie weiter oben ausgeführt gilt die Mikrocephalie als eines der bedeutendsten Merkmale der Alkoholembryopathie. Daher interessierte uns im Rahmen der morphologischen Betrachtung der Jungtiere insbesondere auch neben der Feststellung der Gesamtgehirngewichte ein Vergleich von absoluten und relativen Gehirngewichten.

Im Gegensatz zu HENDERSON und SCHENKER (1977), die bei ihrer Versuchsanordnung unter Verwendung einer 6%igen

Alkohollösung in ihren beiden Beobachtungsgruppen keine signifikanten Unterschiede der relativen Gehirngewichte feststellten, konnten wir bis zum Tag 15 postnatal bei den Nachkommen der Versuchstiere im Vergleich zu den Nachkommen der Kontrolltiere geringere absolute und relative Gehirngewichte ermitteln. Ab Tag 15 bis zum Tag 30 postnatal gleichen sich in unserem Versuch dann die relativen Gehirngewichte an, während die absoluten nach wie vor signifikant niedriger liegen als bei den Kontrolltieren. Man kann in diesem Zusammenhang von dem Phänomen einer harmonischen Dystrophie sprechen.

Den unseren ähnliche Ergebnisse zeigte die Untersuchung von KORNGUTH et al. (1979). Die hier ausschließlich während der Tragzeit an Ratten applizierte 9%ige Äthanollösung führte bei den Nachkommen zu verringertem Gehirn- und Körpergewicht. Die Kleinhirne der Kontrolltiere waren durchschnittlich 11% schwerer als bei den Nachkommen der alkoholbehandelten Tiere, bei gleichem Körpergewicht. Das durchschnittliche Gesamtgehirngewicht war bei den Kontrolltieren um 3% größer.

DIAZ und SAMSON (1980) stellten bei ihren Versuchsratten eine 19%ige Reduktion des totalen Gehirngewichts bei nicht verringertem Körpergewicht fest. Das Kleinhirngewicht differierte um 15%. Auch das Volumen, welches die Gehirne der Versuchstiere einnahmen, war 31% geringer als das der Kontrolltiere.

BORGES und LEWIS (1982), die ihren Versuchstieren während der Schwangerschaft und während der Laktationsphase eine

10%ige Alkohollösung verabreichten, beobachteten bei unbeflußtem Körper- und Gesamtgehirngewicht der Nachkommen eine Reduktion der Kleinhirngewichte von 12%.

In Hinblick auf die Größe der Gehirngewichte nach Alkoholgabe kann sicherlich zusammenfassend festgestellt werden, daß Alkohol auf das Gehirngewicht einen größeren Einfluß hat als auf das Körpergewicht.

Der von uns durchgeführte Schwimmtest erwies sich als probates Instrument zur Bewertung veränderten Verhaltens.

In der einschlägigen Literatur wurde er bisher allerdings von keinem Autor im Zusammenhang mit Alkoholembryopathien erörtert.

Bei der Frage einer toxischen Schädigung des Kleinhirns mit entsprechenden morphologischen Veränderungen sind tierexperimentelle Korrelate auf der Verhaltensebene von Interesse.

In Übereinstimmung mit der festgestellten verzögerten Kleinhirnhistogenese zeigten die Nachkommen der mit Alkohol behandelten Ratten ein deutlich verlangsamtes Lernverhalten beim Schwimmen; sie erreichten im Unterschied zu den Kontrolltieren nur mit zeitlicher Verzögerung das definierte altersentsprechende Schwimmstadium.

Die Bewegungsabläufe waren unkontrollierter und über einen längeren Zeitraum unkoordinierter, ein Ausdruck also mangelnder Funktion des Kleinhirns als Bewegungskoordinationszentrum.

Die von uns beobachtete verzögerte Kleinhirnreifung wurde unter den unterschiedlichsten Bedingungen festgestellt. Es liegt nahe, zunächst auf die Versuche mit Alkohol einzugehen.

Autoren früherer tierexperimenteller Studien berichten über Läsionen in der Hirnrinde und den Basalganglien sowie über eine verzögerte Myelinisierung bei Meerschweinchen (PAPARANICHOLSON und TELFORD, 1957); über Deformationen der Hirnvesikel und des Rückenmarks (SANDOR, 1968; SANDOR und ELIAS, 1968) und über eine verzögerte Myelinisierung des humanen fetalen Gehirns (ROSMAN und MALONE, 1977) und bei fetalen Rattenhirnen (ULRICH und DIETZMAN, 1980).

Neuere Untersuchungen zeigen, daß einer pränatal erfolgten Alkoholexposition extensive Veränderungen im Zellaufbau des Kleinhirns (PHILLIPS und CRAGG, 1982 b) und des Hippocampus (BARNES und WALKER, 1981) folgen können. VOLK et al. (1981) beobachten eine verzögerte zytoplasmatische Reifung der Purkinjezellen und eine auch in unserer Untersuchung festgestellte Persistenz der äußeren Körnerschicht. In der 4. postnatalen Woche ist auch hier der Entwicklungsrückstand aufgeholt.

BORGES und LEWIS (1983) fanden eine signifikante Reduktion der Körnerzellen der inneren Körnerschicht. Der durchschnittliche Prozentsatz von Pyknosen war in der äußeren Körnerschicht signifikant höher als bei den Kontrolltieren.

Die mitotische Aktivität war unverändert. Dies steht im Gegensatz zu unseren Befunden, die bei den Kontrolltieren

eine wesentlich stärkere Mitoseaktivität ergaben. Eine erhöhte Pyknoserate konnten wir bei unseren Versuchstieren nicht feststellen.

Unbestritten hat die Höhe der täglich verabreichten Alkoholmenge einen entscheidenden Einfluß auf die postnatale Entwicklung der Nachkommen. Während bei niedrigen Dosen (1g Äthylalkohol/kg/d bei Abel, 1978) keine signifikante Beeinflussung des Geburtsgewichts feststellbar war (PILSTROM und KIESSLING, 1967; ØISUND et al., 1978), können bei Applikation höherer Alkoholdosen (in Vol% oder g/kg/d angegeben:

PAPARA-NICHOLSON und TELFORD, 1957: 3g/kg/d; VOLK, 1977: 5-7g/kg/d; BOGGAN und RANDALL, 1979: 30% der täglichen Kalorienzufuhr; VOLK et al., 1981: 38-40% der täglichen Kalorienzufuhr; vgl. auch TZE und LEE, 1975; KRONICH, 1976) stärkere Veränderungen am Gehirn erzeugt werden.

DIAZ und SAMSON (1980) produzierten einen hohen Blutalkoholspiegel durch intragastrische Verabreichung des Äthylalkohols (279 mg/dl). Bei einem Blutalkoholspiegel von 239mg/dl durch Inhalation beobachteten BAUER-MOFFET und ALTMAN (1977) bei neugeborenen Versuchstieren einen reduzierenden Einfluß auf die Anzahl der Purkinjezellen, während aus neueren experimentellen Studien von BORGES und LEWIS (1983) ersichtlich ist, daß niedrige Blutalkoholspiegel (135 mg/dl) im mütterlichen Blut und im Blut von neugeborenen Ratten (44mg/dl) nicht ausreichen, um z.B. die Zahl und Größe der Purkinjezellen signifikant zu reduzieren.

Dies gelang allerdings auch VOLK et al. (1981) trotz relativ

hoher Alkoholdosen (38-40% der täglichen Kalorienzufuhr) nicht. Auch in unserem Versuch konnten wir eine solche Reduktion von Purkinjezellen nicht beobachten.

Gerade an dem Versuch von BAUER-MOFFET und ALTMAN (1977) zeigt sich die Problematik unterschiedlicher Applikationsweisen von Alkohol während der Tierversuche. Postnatale Alkoholexposition durch Dampfinhalation produziert regelmäßig eine Reduktion der Purkinjezellzahl im Kleinhirnwurm; der gleiche Effekt ergibt sich bei pränataler Alkoholexposition. Durch Alkoholinhalation werden hohe Blutalkoholspiegel erzeugt. Insofern kann die von BAUER-MOFFET und ALTMAN festgestellte verringerte Anzahl der Purkinjezellen möglicherweise ein Produkt direkter Zelltoxizität durch den Bedampfungsmodus sein. Die Purkinjezellen scheinen durch den Alkoholdampf regelrecht zerstört zu werden.

Durch Studien von BAUER-MOFFET und ALTMAN (1975 und 1977) und PHILLIPS und CRAGG (1982 a und b) wissen wir, daß die Makroneuronen des Kleinhirns in allen Differenzierungsphasen den toxischen Einflüssen von Äthanol gegenüber empfänglich sind.

Beispielhaft sei hier eine direkte Dosis-Wirkungs-Beziehung für entwicklungshemmende Effekte von Alkohol zitiert:

" 20% of the daily calories were supplied by ethanol and by isocaloric sucrose in the controls.... In this group, the histological and electron microscopic investigations revealed only slight differences in neuronal histogenesis. When 35% of the daily calories were supplied by ethanol the

rate of stillbirths and neonate mortality increased. The histological investigations showed an increases number of pyknotic cells and perivascular hemorrhages in the molecular layer... the electronic microscopic investigations demonstrated an impaired cerebellar histogenesis with delayed synaptogenesis." (VOLK et al., 1980)

CHERNOFF (1977) stellt in Abhängigkeit von der zugeführten Alkoholkonzentration gehäuft Mißbildungen bei Mäusen fest; RANDALL et al. (1977) Rückenmarksschäden, Schädigungen der Sehbahn, der Niere und des Herzens.

Da Alkoholexposition in utero bei Versuchstieren nachweislich zu prä- und postnatalen Wachstumsdefiziten führt.

liegt die Vermutung nahe, daß Äthanol im sich entwickelnden Organismus einen hemmenden Einfluß auf die Proteinsynthese ausübt.

Im Laufe der Jahre hat es zahlreiche Versuche gegeben, durch akute oder chronische Alkoholzufuhr dessen Einfluß auf die Proteinsynthese in verschiedenen Geweben in vitro und in vivo zu bestimmen. Die meisten Ergebnisse liegen anhand von Experimenten mit erwachsenen Nagetieren vor: JARLSTEDT und HULTBORN, 1972; FLEMING et al., 1975; TEWARI et al., 1975, 1977, 1978; ROTHSCILD et al., 1980. Andere Untersucher beschäftigen sich mit Tieren in der Fetal- und Neonatalzeit (RAWAT, 1975, 1976, 1979).

Alkohol, der akut (JARLSTEDT und HAMBERGER, 1972; KURIYANA et al., 1972; LAMAR, 1972) oder chronisch (TEWARI und NOBLE, 1971; JARLSTEDT und HAMBERGER, 1972) verabreicht

wurde, zeigte einen hemmenden Einfluß auf die Proteinsynthese im Gehirn. Ähnliche Befunde ergaben sich auch an der Leber (PERIN et al., 1974; MORLAND und SJETNAN, 1976; MORLAND und BESSESEN, 1977; HOFMAN und HOSEIN, 1978) und am Herzen (SCHREIBER et al., 1972).

Sowohl Äthanol als auch dessen primärer Metabolit Acetaldehyd haben bei in vitro Versuchen einen hemmenden Einfluß auf die Proteinsynthese; ihre spezielle Rolle unter in vivo Bedingungen ist noch ungeklärt. Zahlreiche Studien haben die Untersuchung der spezifischen Syntheseschritte der Proteine, auf die Äthanol einen hemmenden Einfluß ausübt, vorangetrieben. An Gehirnen erwachsener Tiere konnte festgestellt werden, daß Alkohol die Aktivität der RNA-Polymerase reduziert, den RNA-Transport vom Zellkern in das Zytoplasma behindert, die Aminoacyl-tRNA (transfer-RNA)-Synthetase hemmt, eine unvollständige Verbindung der mRNA (messenger-RNA) mit den Ribosomen bewirkt und die Proportionen der ribosomalen Aggregate verändert (JARLSTEDT und HULTBORN, 1972; FLEMING et al., 1975; TEWARI et al. 1975 und 1977). Im Vordergrund des Alkoholeinflusses stehen die mangelhafte Leistung der Aminoacyl-tRNA-Synthetase und der verminderte mRNA-Transport zum Zytoplasma.

Chronische Alkoholfzufuhr wurde für einen gesteigerten Umschlag von RNA in den Mitochondrien von Rattenhirnen verantwortlich gemacht (TEWARI et al., 1978; TEWARI und NOBLE, 1979).

Obwohl die Mehrzahl aller Untersuchungen in den verschiedensten Gewebearten nach Alkoholexposition eine signifikante

Hemmung der Proteinsynthese gezeigt hat, existieren noch zahlreiche Widersprüche. Einige Schwierigkeiten dieses Untersuchungsgebietes sind sicherlich auf Unterschiede bei den Tierspezies, bei den verwendeten Gewebearten, in der Alkoholdosis und in der Versuchsdauer zurückzuführen.

Andere Probleme in Hinblick auf die Interpretation der gewonnenen Daten sind der Mangel an Information über in vivo Alkoholspiegel, das Mißlingen, den Pool der Vorstufen der endogenen Aminosäuren zu quantifizieren, der fälschlich die Inkorporationsrate von Aminosäurevorstufen in die Proteine unterdrücken könnte und schließlich der Mangel an exaktem Wissen über die Rolle der alkoholinduzierten Hypothermie unter in vivo Bedingungen und möglicherweise auch bei der in vitro Proteinsynthese.

Aussagen über die Problematik einer unspezifischen Hypothermie finden sich bei FREUND (1979) und HENDERSON et al. (1980). RAWAT (1975, 1976 und 1979) verdanken wir zahlreiche Untersuchungen über den Alkoholeinfluß auf die Proteinsynthese bei Feten und Neugeborenen.

Chronische mütterliche Alkoholexposition induzierte zahlreiche Veränderungen der Proteinsynthese beim Feten und Neugeborenen: Reduktion der ^{14}C -Leucin Inkorporation in cerebrale Ribosomen und Herz- und Leberproteine fetaler und neugeborener Ratten; reduziertes Vermögen der pH_5 -Enzymfraktion des fetalen Hirns die ^{14}C -Leucin-tRNA zu synthetisieren (RAWAT, 1975); eine Verminderung der totalen RNA und DNA im neonatalen Gehirn (RAWAT, 1975), der RNA im Herz

der Feten und Neugeborenen (RAWAT, 1979) und in der fetalen Leber (RAWAT, 1976). Diese Befunde konnten von anderen Untersuchern nicht immer bestätigt werden. So konnten HENDERSON et al. (1979) keine konsistente Verminderung der Gesamtmenge an RNA in der fetalen Niere, Leber, Herz oder dem Gehirn nach chronischer Alkoholgabe finden.

KHAWAJA et al. (1978) stellten u. a. eine Verminderung der neuronalen Proteinsynthese bei 18 Tage alten Ratten, die mit 9%igem Alkohol behandelt worden waren, fest. LINDHOLM und KHAWAJA (1979) fanden bei jungen Ratten eine Steigerung der Proteinsynthese an freien Ribosomen und eine Verminderung der Proteinsynthese am rauen endoplasmatischen Retikulum (rER). Die Abnahme diskutierten sie als eine Membranveränderung am rER. Ihre Befunde korrelieren mit unseren elektronenmikroskopischen Ergebnissen dahingehend, daß wir bei den 12 Tage alten Versuchstieren im Vergleich zu den Kontrolltieren relativ wenig rauhes endoplasmatisches Retikulum an relativ vielen freien Ribosomen fanden. So kann auch bei unseren Versuchsergebnissen zumindestens von einer alkoholinduzierten Verminderung der Proteinsynthese ausgegangen werden, welche eine besondere Vulnerabilität der Purkinjezellen nach sich zieht. Die deutliche Verarmung an Zellorganellen bei den Versuchstieren ist sicherlich ein wesentliches Prinzip sowohl für das Auftreten einer generellen Hypotrophie als auch für die z.T. lediglich transitorische Entwicklungshemmung der cerebralen Leistung im Rahmen der Alkoholembyopathie (vgl. auch unsere Ergebnisse im Schwimmversuch).

Die durch zahlreiche Versuche ausreichend als erwiesen zu betrachtende hemmende Wirkung von Äthylalkohol auf die Proteinsynthese könnte, zumindestens teilweise, die Wachstums hemmung bei Versuchstieren und unter humanen Bedingungen der Alkoholembryopathie erklären. Zum generellen Verständnis dieses Phänomens muß allerdings noch einiges geleistet werden. So haben die meisten Untersucher, die sich mit der Pathogenese der Alkoholembryopathie am Beispiel der Gehirnentwicklung beschäftigen, das gesamte Organ als Untersuchungsgegenstand herangezogen, obwohl dieses sich durch eine große Heterogenität im Hinblick auf seine Funktion und Entwicklungsgeschwindigkeit auszeichnet. Auch spielt die unterschiedliche Dauer der Alkoholfuhr eine Rolle sowie grundsätzlich natürlich auch in diesem Fall die Problematik der Übertragbarkeit tierexperimenteller Befunde auf menschliche Konditionen.

In der Pathogenese der Alkoholembryopathie spielen offensichtlich auch hormonale Veränderungen eine Rolle. Es konnten z.B. nach Alkoholgabe Veränderungen der Corticosteroide und der Sexualhormone festgestellt werden (KAKIHANA et al., 1980); ebenso Einflüsse auf das Glukagon (KAKIHANA und BUTTE, 1979). Auch Veränderungen des Wachstumshormon scheinen eine nicht unbedeutende Rolle zu spielen (THADANI und SCHANBERG, 1979). Eine akute Alkoholgabe induzierte im Tierversuch eine Verminderung des Wachstumshormonspiegel im Serum und ein Absinken der Akti-

vität der Ornithindecaboxylase im Gehirn und Herzen. Auch eine Verminderung der Schilddrüsenhormone kann als hemmender Faktor der cerebralen Entwicklung angeschuldigt werden (WINICK, 1976). Ein Mangel an Thyroxin (T_4), welches essentiell für die neuronale Entwicklung ist, verzögert im Tierexperiment die Myelinisierung (HAMBURGH, 1968), führt zu einer Abnahme synaptischer Profile (NICHOLSON und ALTMAN, 1972; REBIÈRE und DAINAT, 1976) und verkleinert die Zelldurchmesser (BALASZ, 1971).

Diese cerebrale Entwicklungshemmung wurde von SOKOLOFF und ROBERTS (1971) als Ergebnis einer gestörten Proteinsynthese, welche durch Thyroxinmangel bedingt sein soll, diskutiert. NICHOLSON und ALTMAN (1972), die den Einfluß einer frühen Hypothyreose auf die Entwicklung des Rattenkleinhirns untersuchten, fanden bei hypothyreoten Tieren ein verlängertes Persistieren der äußeren Körnerschicht, wie auch wir es bei unseren Versuchstieren beobachten konnten.

Die Arbeit von KORNGUTH et al. (1979) konnte eine Verbindung zwischen Thyroxinmangel und Alkoholembryopathie insofern herstellen, als sie bei alkoholembryopathisch erkrankten Ratten in den ersten zwei Lebenswochen verringerte T_4 -Spiegel fanden. ROSE et al. (1981) beobachteten bei tierexperimentellen Untersuchungen nach chronischer Alkoholgabe in utero einen Ausfall der T_4 -Antwort nach TRH-Stimulation, eine Reduktion des basalen T_3 -Plasmaspiegels beim Fetus und eine deutliche Abschwächung des T_3 -Anstiegs nach TRH-Gabe. Gleichzeitig stellten sie einen Anstieg des mütterlichen und fetalen Plasmacortisolspiegels fest, wie er auch beim

Menschen nach Alkoholgabe gefunden wurde (JENKINS, 1968). Dieser alkoholinduzierte Anstieg von Cortisol im Plasma ist insofern von Interesse, als erhöhte Cortisolspiegel beim Feten für eine Hemmung des Gehirnwachstums und der Myelinisierung sowie für eine Reduktion der feinmotorischen Kontrolle beim Neugeborenen verantwortlich sein sollen (ROSE, 1981).

Auch sekundäre Mangelsituationen werden im Zusammenhang mit der Pathogenese der menschlichen Alkoholembryopathie diskutiert, z.B. Vitamin B₁- oder Vitamin B₆- Mangel und Proteinmangel (MAJEWSKI, 1979). Eine solche direkte Mangelsituation versuchten wir in unseren Versuchen durch Gabe einer mit Vitaminen und Mineralien angereicherten Vollwertnahrung ("Stardit") auszugleichen. Eine indirekte metabolisch bedingte Mangelsituation konnten wir bei den Muttertieren nicht ausschließen, allerdings eingrenzen durch eine Beschränkung der Alkoholgabe auf den Zeitraum der Schwangerschaft. Andere Untersucher haben den Alkohol vor, während und nach der Tragzeit verabreicht (ØISUND et al., 1978).

Eine Alkoholdiät, die auch vor der Schwangerschaft verabreicht wird, birgt die Gefahr einer Mangelsituation mit entsprechenden Stoffwechselveränderungen für das Muttertier in sich. Zudem ist in solchen Versuchsanordnungen die zeitliche Genese der Schädigung durch den Alkohol nicht mehr mit der gleichen Wahrscheinlichkeit dem Schwanger-

schaftszeitraum zuzuordnen. Die Arbeiten von PILSTROM und KIESSLING (1967) und ABEL (1978) sprechen dafür, die Alkoholapplikation auf den Zeitraum der Schwangerschaft zu begrenzen. Sie wiesen nach, daß Alkoholgabe während der Schwangerschaft beim Muttertier eine Reduktion der Laktation mit einer konsekutiven schwer quantifizierbaren postnatalen Mangelsituation für die Jungtiere zur Folge haben kann. Spezifische Beispiele eines Nahrungsdefizits, welches den Alkoholismus häufig begleitet und Wachstum und Entwicklung negativ beeinflusst oder auch kongenitale Anomalien nach sich zieht, sind der Proteinmangel, der Folsäuremangel sowie der Mangel an Zink und Magnesium (ROSETT, 1979). Eingeschränkte Proteinzufuhr, insbesondere während der späten Schwangerschaft, kann bei neugeborenen Kindern zu Untergewicht führen (NAEYE et al., 1973) und Folsäuremangel - durch Folsäureantagonisten oder diätetische Einschränkung induziert - kann zu fetaler Resorption, Totgeburten und kongenitalen Anomalien bei Ratten führen (LINDENBAUM, 1974; SULLIVAN, 1967). Ein Mangel an Zink erwies sich als ursächlich für fetale Mißbildungen (HURLEY und SWENERTON, 1966; HURLEY et al., 1971). Magnesium hat in Hinblick auf das fetale Wachstum eine wichtige Funktion. Es stabilisiert Nukleinsäuren und wird bei verschiedenen Phasen der Proteinsynthese benötigt (TABOR und TABOR, 1972; ROSETT, 1979).

Mangelernährung bei Alkoholikern könnte von einer mangelhaften Aufnahme und verminderten Absorption bestimmter Nahrungsmittel und/oder deren zu geringen Utilisation durch die Gewebe herrühren. Zusätzlich kann Alkohol möglicherweise den materno-fetalen Nahrungsmitteltransport via Plazenta behindern (HENDERSON et al., 1981).

Prospektive Studien bei schwangeren Frauen in Boston haben bei Müttern mit hohem Alkoholkonsum und Neugeborenen mit Alkoholembryopathie im Vergleich zu Kontrollgruppen keine selektive Beeinträchtigung der Nahrungsaufnahme ergeben, obwohl die Gesamternährung in allen Gruppen suboptimal war (ROSETT, 1979). HENDERSON et al. (1979) konnte mit einigen hohen Alkoholdosen, welche kaum eine Mangelernährung bewirken können, tierexperimentell das Bild einer Alkoholembryopathie erzeugen.

Die Demonstration eingeschränkter Embryonalentwicklung in Gewebekulturen, d.h. ohne jeglichen mütterlichen Einfluß, nach kurzfristiger Alkoholexposition impliziert einen direkten toxischen Effekt von Alkohol unabhängig von einer Mangelernährung (BROWN et al., 1979).

Bei den meisten tierexperimentell erzeugten Alkoholembryopathien wurde nach chronischer Alkoholexposition kein Folsäuremangel festgestellt und exogene Folsäurezufuhr verhinderte nicht die Entwicklung einer Alkoholembryopathie (LIN et al., 1978).

HENDERSON et al. (1979) stellte bei seinen mit Äthanol behandelten Versuchstieren zwar eine Beeinträchtigung der

Feten, aber normale Zinkspiegel im Gehirn und Femur erwachsener Versuchstiere und des Femur und der Muskeln von Feten fest. Entsprechend fanden ABEL und GREIZERSTEIN (1979) nach Alkoholgabe bei Feten normale Magnesiumspiegel. Ein Defizit der hier angeführten Mineralstoffe scheint also für die Entwicklung der Alkoholembryopathie im Tierexperiment nicht von Bedeutung zu sein.

In zahlreichen Tierexperimenten zeigte sich bei den Nachkommen von Versuchstieren, die während der Tragzeit oder kurz nach dem Werfen kalorienvermindert ernährt worden waren, eine verzögerte Kleinhirnentwicklung, die z.T. große Übereinstimmung mit unserem Befundmaterial aufweist: WINICK, 1966; NEVILLE und CHASE, 1971; BARNES und ALTMAN, 1973; PATEL et al., 1973; PERSSON und SIMA, 1975; WINICK und NOBLE, 1975; GOPI-NATH et al., 1976; MC CONNELL und BERRY, 1978. WITTSTRUCK et al. (1979) untersuchten den Einfluß einer prä- und postnatalen Proteinrestriktion auf die Entwicklung von Ratten. Die Nachkommen der Mütter, die eine 8%ige Casein-Diät erhielten, hatten im Vergleich zu den Kontrolltieren ein um 50% verringertes Körpergewicht und ein um 10-15% verringertes Gehirngewicht. Zu ähnlichen Resultaten kamen DOBBING und SANDS (1971). Es ist unklar, ob die Verminderung des Gehirngewichts ein Resultat der Proteinmangeldiät oder der geringeren Anforderungen eines um 50% reduzierten Körpergewichts ist. Eine Beeinflussung des "growth spurt" (s.o.) konnten WITTSTRUCK et al. (1979) nicht feststellen.

FORBES et al. (1977), die ihre Versuchstiere vor, während und nach der Tragzeit mit einer 8%igen Caseindiät behandelten, fanden bei 5 Tage alten Nachkommen eine Körpergewichtsreduktion um 40% und eine Verringerung des Gehirngewichts um 25% gegenüber den Kontrolltieren, d.h. die Nachkommen der alkoholbehandelten Tiere hatten eine relative Makrozephalie, die im Erwachsenenalter verschwand.

GOPINATH et al. (1976) beobachteten nach gezielter Unterernährung an Rattenkleinhirnen eine Abnahme der Körner-, Purkinje- und Sternzellen. BARNES und ALTMAN (1973) kamen zu ähnlichen Ergebnissen. Sie fanden nach leichter Unterernährung (75% der Soll-Ernährung) während der Schwangerschafts- und Stillperiode einen geringen Einfluß auf das Körper- und Gehirnwachstum nach dem Abstillen der Tiere, aber keine nennenswerte Verzögerung der Kleinhirnentwicklung auf histologischer Ebene. Die einer schweren Unterernährung (50% der Soll-Ernährung) ausgesetzten Versuchstiere zeigten eine drastische Reduktion des Gehirn- und Körpergewichts und einen permanenten Verlust von Stern-, Korb-, Körner- und Purkinjenzellen. Eine Kompensation der mangelhaften Gehirnentwicklung, wie wir sie in unseren Versuchen am Tag 40 postnatal feststellten, wurde hier auch am 120. Lebenstag noch nicht registriert. Die Tatsache, daß BARNES und ALTMAN (1973) bei den stark unterernährten Versuchstieren auch am Tag 20 postnatal noch eine äußere Körnerschicht vorfanden, zeigt, daß die Zellproliferation bei den Versuchstieren länger persistiert als bei den Kontrolltieren. Da die

Purkinjezellen pränatal ausgebildet werden, ist die hier gefundene Reduktion der Purkinjezellzahl als Hinweis auf eine intrauterine Mangelsituation zu werten.

Eine in den Versuchen von DOBBING und SANDS (1971) relativ leichte Unterernährung von Ratten während der Periode des "growth spurt" in der Gehirnentwicklung zeigte demgegenüber lediglich eine geringe Verminderung der Purkinjezellen bei starkem Verlust an Körnerzellen. Diese selektive Reduktion von Körnerzellen steht in Relation zu ihrem postnatalen Vermehrungsmodus bei der Ratte. Im Gegensatz zu der von DOBBING und SANDS (1971) beobachteten im Vergleich zur Molekularschicht stärker verringerten Körnerschichtdicke fanden NEVILLE und CHASE (1971) eine besonders ausgeprägte Verringerung der Molekularschichtdicke bei erhöhter Dichte der Purkinjezellen und inneren Körnerzellen im Kleinhirnwurm von Ratten, die durch eine künstliche Vergrößerung der Wurfgrösse (16 Tiere) "unterernährt" worden waren.

Wir konnten die in unserem Befundmaterial bei 12 Tage alten Versuchstieren festgestellte deutliche Verringerung der Molekularschichtdicke auf ein ebenfalls beobachtetes verzögertes Dendritenwachstum der Purkinjezellen zurückführen. NEVILLE und CHASE (1971) betrachten die bei Unterernährung beobachtete Reduktion der Molekularschichtdicke als Ergebnis einer kleineren Anzahl an Körnerzellaxonen, die normalerweise die Molekularschicht passieren. Zusätzlich unterstellen sie einen Einfluß auf das Dendritenwachstum der Purkinjezellen, welches sich üblicherweise zwischen dem 5. und 28. postnatalen Tag vollzieht. Da die Tiere in

ihrem Versuch von der Geburt bis zum 20. postnatalen Tag unterernährt wurden, kann ein verzögertes Dendritenwachstum angenommen werden.

STEWART et al. (1974), die ihren Versuchstieren vom 5. Schwangerschaftstag an und auch während der Laktationsphase durch Proteinmangel unterernährten, fanden in den Gehirnzellen eine generelle Verminderung an Zytoplasma sowie eine dünnere Myelinschicht. Die Zelldichte war erhöht, das Dendritenwachstum eingeschränkt. Die Veränderungen waren Überwiegend im Bereich der Basalganglien, im Hypothalamus und im Kleinhirn angesiedelt.

Auch SALAS et al. (1973) dokumentierten nach Unterernährung vom 4. bis 13. postnatalen Tag als Ergebnis eine Reduktion der Gesamtzahl von Dendritenfortsätzen, eine Verringerung der Dendritendicke der großen Pyramidenzellen und eine geringere Dichte des basilaren dendritischen Netzwerkes. PYSH und PERKINS (1975) beschreiben eine verzögerte Reifung dendritischer Differenzierungen der Purkinjezellen nach Unterernährung.

Parallelen zu unserem Befundmaterial zeigen auch die Untersuchungsergebnisse von LEWIS et al. (1975), die ihre Versuchstiere vom 6. Schwangerschaftstag bis zum Ende der Stillzeit unterernährten. Sie konnten bei den Nachkommen der behandelten Versuchstiere am 21. postnatalen Tag eine höhere mitotische Aktivität messen. Dieser Befund war assoziiert mit einem verzögerten Verschwinden der äußeren Körnerschicht. Am 21. Tag war diese Schicht bei den unterernährten Ratten noch 2-4 Zellreihen stark, bei den Kon-

trolltieren nur noch eine einzelne Zellreihe sichtbar. Die von vielen Autoren beschriebenen Veränderungen der äußeren Körnerschicht (s.o.) nach Unterernährung scheinen unspezifisch zu sein, da das Kleinhirn junger Säugetiere auf unterschiedliche Beeinflussungsmodalitäten ähnlich reagiert, z.B. nach der Behandlung mit Kortikosteroiden postnatal (COTTERRELL et al., 1972).

Häufig wurde nach Unterernährung in Gehirnen von Mäusen und Ratten eine permanente Zellzahlverminderung gefunden: HOWARD, 1965; WINICK, 1969 und PATEL et al., 1973; manchmal ein verringertes Gehirngewicht (CRAGG, 1972), eine verzögerte Myelinisierung (DAVISON und DOBBING, 1968; BASS et al., 1970) oder dichtere Stapel kortikaler Neurone und Verluste axonaler Endigungen in der Großhirnrinde (EAYRS und HORN, 1955).

Es ist im Zusammenhang von Unterernährung und Gehirnentwicklung von großer Bedeutung, ob die Mangelsituation den cerebralen "growth spurt" (SMART und DOBBING, 1972), i.e. die Periode erhöhter Vulnerabilität, miterfaßt oder nicht. Erstreckt sich die Unterernährung auch auf die vulnerable Phase der Gehirnentwicklung, können weder das Gehirn noch der übrige Organismus den Entwicklungsrückstand vollständig kompensieren (DOBBING, 1968). Mit WINICK (1969) kann davon ausgegangen werden, daß Unterernährung während proliferativer Wachstumsphasen zu einer Reduktion der DNA-, RNA- und Proteinsynthese und zu einer Verminderung der Zellzahl in unterschiedlichen Organen, insbesondere auch dem Gehirn führt.

Der Hauptkritikpunkt aller Experimente mit Äthanol ist eine mögliche Interferenz mit der Nahrungsverwertung. Kontroll- und Versuchstiere können die gleiche Nahrungsmenge zu sich nehmen, aber dennoch unterschiedlich verwerten, d.h. es resultiert eine unterschiedliche Ernährungssituation für die wachsenden Feten. Aus diesem Grunde gibt es Versuche, bei denen die Jungtiere alkoholbehandelter Ratten unmittelbar nach der Geburt von unbehandelten Muttertieren gestillt wurden (DETERING et al., 1981), ähnlich unserem weiter oben geschilderten "Ammen-Modell". DETERING et al. (1981) ermitteln bei identischer Ernährung bis zur 26. Woche postnatal eine signifikante Gewichtsreduktion des Hypothalamus und ein Defizit an Norepinephrin. Auch DIAZ und SAMSON (1980) wählten für ihre Versuche einen von der Mutter unabhängigen Alkoholapplikationsmodus, indem sie den Rattenjungen postnatal Alkohol durch intragastrische Kanülen verabreichten. In Anlehnung an diese Studie kann davon ausgegangen werden, daß tatsächlich der Alkohol und nicht eine Mangelernährung für die Veränderungen der Gehirnentwicklung verantwortlich sind.

Unser Befundmaterial zeigt Übereinstimmungen mit den hier diskutierten Störungen der cerebralen und cerebellaren Entwicklung und Differenzierung bei Proteinmangel, Thyroxinmangel und Mangel- bzw. Unterernährung.

Bei unseren Versuchstieren sind insbesondere die Differenzierung der Molekularschicht - verzögerte Aussprossung der

Dendriten - und die äußere Körnerschicht - verlängertes Persistieren - betroffen.

Daß in Hinblick auf die Quantität der Purkinjezellen zwischen Kontroll- und Versuchstieren kaum Unterschiede vorhanden sind, zeigt, daß die Intensität der Noxe Alkohol nicht ausreichte, die Genese und Migration der Purkinjezellen zu stören.

Die Qualität der Purkinjezellen allerdings, d.h. die Reifung und dendritische Differenzierung, kann wie oben diskutiert durch Stoffwechselveränderungen unterschiedlichster Genese verändert werden.

Die von uns beobachteten Entwicklungsverzögerungen und Defizite am Kleinhirnwurm wurden bei allen lebenden Versuchstieren im Bereich der Fissura prima bis zum Tag 40 postnatal überwunden oder kompensiert.

Demnach kann wohl auf eine reversible Schädigung durch Äthylalkohol im Sinne einer Retardierung geschlossen werden.

E Zusammenfassung

Wir hatten uns zum Ziel gesetzt, wichtige Symptome der menschlichen Alkoholembryopathie, i.e. Mikrocephalie, postnataler Minderwuchs und geistige Retardierung, im Tierexperiment zu reproduzieren.

Zu diesem Zweck wurde 80 weiblichen Wistar-Ratten vom ersten Schwangerschaftstag an bis zur Geburt der Nachkommen eine vollwertige Flüssigkeitsdiät ("Stardit") peroral verabreicht. 50 Tiere erhielten 35% ihres täglichen Kalorienbedarfs als 98%ige Äthylalkohol zugeführt, das entspricht einer 12%igen Alkohollösung.

Die morphologischen Untersuchungen an den über Randomisierung ausgewählten Jungtieren zeigten an den Kleinhirnen im Bereich der Fissura prima eine lichtmikroskopisch deutlich identifizierbare Migrations- und Mitosestörung der Körnerzellen mit verlängerter Persistenz der äußeren Körnerschicht sowie eine verzögerte Differenzierung der Purkinjezellen, welche sich elektronenmikroskopisch insbesondere als Verarmung an Zellorganellen manifestierte.

Eine Messung der relativen und absoluten Gehirngewichte ergab für die Versuchstiere eine Verringerung bis zum 15. postnatalen Tag. Danach glichen sich die relativen Gehirngewichte an, während die absoluten nach wie vor unter denen der Kontrolltiere blieben. Da die Gehirngewichte nur bis zum 30. postnatalen Tag gemessen wurden, kann über ein mögliches Angleichen auch der absoluten

Gehirngewichte keine Aussage getroffen werden.

Parallel zu den morphologischen Studien wurde zur Erfassung cerebellärer Schäden von Tag 4 bis Tag 18 postnatal ein Schwimmtest durchgeführt, über den auch diskrete Koordinationsstörungen erfaßt werden können. Der Test ergab eine verzögerte Koordinationsentwicklung bei den Versuchstieren. Ihr Lernverhalten war deutlich verlangsamt. Bei einer Wiederholung des Schwimmtests am 30. postnatalen Tag waren keine Unterschiede mehr feststellbar.

Die von uns beobachtete Verzögerung der Kleinhirnhistogenese werten wir nach Durchsicht der einschlägigen Literatur als Resultat polyätiologischer Zusammenhänge, d.h. es handelt sich hier nicht um ausschließlich alkoholspezifische Effekte.

So ist z.B. eine mögliche sekundäre Mangelsituation der Muttertiere nicht vollständig auszuschließen; ebenso spielen der Einfluß auf das Endokrinium und die Proteinbiosynthese eine Rolle.

Bei der in unsere Versuchsanordnung registrierten Differenzierungshemmung handelt es sich um eine Reifungs- und Entwicklungsverzögerung im Sinne einer Retardierung, da alle bei der Geburt und in den ersten postnatalen Wochen auftretenden Entwicklungsstörungen der Jungtiere bis zum Tag 40 überwunden sind und im Vergleich zu den Kontrolltieren keine Defizite mehr vorhanden sind. Eine Irreversibilität im Sinne von Dauerschäden, wie sie z.B. nach Unterernährung nachweislich zu finden sind, konnten wir am Kleinhirn nicht nachvollziehen.

F Literaturliste

ABEL, E.L.: Effects of ethanol on pregnant rats and their offspring. *Psychopharmacology* 57, 5-11 (1978)

ABEL, E.L. and DINTCHEFF, B. A.: Effects of prenatal alcohol exposure on growth and development in rats. *J. Pharm. Exp. Therapeutics* 207, 916-921 (1978)

ABEL, E.L. and GREIZERSTEIN, H. B.: Ethanol- induced prenatal growth deficiency: Changes in fetal body composition. *J. Pharmacol. Exp. Therapeutics* 211, 668- 671 (1979)

ADDISON, W.H.F.: The development of the Purkinje cells and of the cortical layers in the cerebellum of the albino rat. *J. Comp. Neur.* Vol. 21, No. 5, 459-587 (1911)

ALTMAN, J.: Autoradiographic and Histological Studies of Postnatal Neurogenesis. Dating the time of production and onset of differentiation of cerebellar microneurons in rats. *J. Comp. Neur.* 136, 269-294 (1969)

ALTMAN, J.: Postnatal development of the cerebellar cortex in the rat. I-III. *J. Comp. Neur.* 145, 353-514 (1972 a-c)

- BALASZ, R.: Biochemical effects of thyroid hormones in the developing brain. In: D. Pease (Ed.): Cellular Aspects of Neural Growth and Differentiation. Univ. California Press, Berkeley, 1971, pp. 273-320
- BARNES, D. and ALTMAN, J.: Effects of two levels of gestational-lactational undernutrition on the post-weaning growth of the rat cerebellum. *Exp. Neurol.* 38, 420-428 (1973)
- BARNES, D. and WALKER, D.W.: Prenatal ethanol exposure permanently reduces the number of pyramidal neurons in rat hippocampus. *Dev. Brain Res.* 1, 333-340 (1981)
- BASS, N.H., NETSKY, M.G. and YOUNG, E.: Effect of neonatal malnutrition in developing cerebrum. 1. Microchemical and histologic study of cellular differentiation in the rat. *Arch. Neurol. Chicago* 23, 289-302 (1970)
- BAUER-MOFFET, C. and ALTMAN, J.: Ethanol-induced reductions in cerebellar growth of infant rats. *Exp. Neurol.* 48, 378-382 (1975)
- BIERICH, J.R.: Die Alkoholembryopathie. *Münch. Med. Wschr.* 122, 1240-1241 (1980)
- BOGGAN, W.O. and RANDALL, C.M.: Renal anomalies in mice prenatally exposed to ethanol. *Res. Com. Chem. Pathol. Pharmacol.* Vol. 23, No 1 (1979)

- BORGES, S. and LEWIS, P.D.: The effect of ethanol on the cellular composition of the cerebellum. *Neuropathol. and Appl. Neurobiol.* 9, 53-60 (1983)
- BROWN, N.A., GOULDING, E.H. and FABRO, S.: Ethanol embryotoxicity: Direct effects on mammalian embryos in vitro. *Science* 206, 573-575 (1979)
- BURKE, J.P. and RUBIN, E.: The effects of ethanol and acetaldehyde on the products of protein synthesis by liver mitochondria. *Lab. Invest.* 41, 393-400 (1979)
- CHERNOFF, G.F.: A mouse model of the fetal alcohol syndrome. *Teratology* 11, 14 A (1975)
- CHERNOFF, G.F.: The fetal alcohol syndrome in mice: An animal model. *Teratology* 13, 223 (1977)
- COTTERRELL, M., BALASZ, R. and JOHNSON, A.L.: Effects of corticosteroids on the biochemical maturation of rat brain: postnatal cell formation. *J. Neurochem.* 19, 2151-2167 (1972)
- CRAGG, B.G.: Development of cortical synapses during starvation in rats. *Brain* 95, 143-150 (1972)
- DAVISON, A.N. and DOBBING, J.: The developing brain. In: Davison, A.N. and Dobbing, J. (Eds.): *Appl. Neurochem.*, pp. 253-386, Blackwell, Oxford, 1968
- DIAZ, J. and SAMSON, H.H.: Impaired Brain Growth in Neonatal

- Rats Exposed to Ethanol. *Science* 208, 751-753 (198)
- DOBBING, J.: Vulnerable periods in developing brain. In:
A.N. Davison and J. Dobbing (Eds.): *Appl. Neurochem.*,
pp. 287-316, Blackwell, Oxford, 1968
- DOBBING, J. and SANDS, J.: Vulnerability of developing brain.
IX. The effects of nutritional growth retardation on the
timing of the brain growth spurt. *Biol. Neonate* 19,
363-378 (1971)
- DÖRNER, K. und PLOG, U.: *Irren ist menschlich oder Lehrbuch
der Psychiatrie und Psychotherapie*. Psychiatrie-Verlag
Wunstorf, 1978
- DRUSE, M.J. and HOFTEIG, J.H.: The effects of chronic maternal
alcohol consumption on the development of central
nervous system myelin subfractions in rat offspring.
Drug and Alcohol Dependence 2, 421-429 (1977)
- EAYRS, J.T. and HORN, G.: The development of cerebral cortex
in hypothyroid and starved rats. *Anat. Rec.* 121, 53-61
(1955)
- ELLIS, F.W. and PICK, J.R.: Beagle model of the fetal alcohol
syndrome. *Pharmacologist* 18, 190 (1976)
- ERICKSON, C.K.: Regional distribution of ethanol in the brain.
Life Sci. 19, 1439-1446 (1976)

- FLEMING, E.W., TEWARI, S. and NOBLE, P.: Effects of chronic ethanol ingestion on brain aminoacyl-tRNA-synthetases and tRNA. *J. Neurochem.* 24, 553-560 (1975)
- FORBES, W.B., TRACY, C., RESNICK, O. and MORGANE, P.J.: Effects of Maternal Dietary Protein Restriction on Growth of the Brain and Body in the Rat. *Brain Res. Bulletin* 2, 131-135 (1977)
- FREUND, G.: Ethanol-induced changes in body temperature and their neurochemical consequences. *Biochem. and Pharmacol. of Ethanol* Vol. 2, ed. by E. Majchrowitz and E.P. Noble. New York: Plenum Press, 1979, pp. 439-452
- GOPINATH, G., BIJLANI, V. and DEO, M.: Undernutrition and the developing cerebellar cortex in the rat. *J. Neuropathol. exp. Neurol.* 35, 125-135 (1976)
- HAAS, F.: Tierexperimentelle Untersuchungen zur Morphologie der Alkoholembyopathie. Inaugural-Dissertation, Inst. für Neuropathologie, FU Berlin, 1982
- HACKER, E. und KLAUS, S.: Die Entwicklung des Schwimmverhaltens bei Mäusen als Versuchstest in der Toxikologie. *Z. Versuchstierkunde*, Bd. 20, 81-87 (1978)
- HAMBURGH, M.: An Analysis of the action of thyroid hormone on development based on in vitro and in vivo studies. *Gen. Comp. Endocr.* 10, 198 (1968)

- HENDERSON, G.I. and SCHENKER, S.: The effect of maternal alcohol consumption on the viability and visceral development of the newborn rat. *Res. Comm. Chem. Pathol. and Pharmacol.* 16, 365-367 (1977)
- HENDERSON, G.I., HOYUMPA, A.M., McCLAIN, C. and SCHENKER, S.: Effects of chronic and acute alcohol administration on fetal development in the rat. *Alcoholism: Clin. exp. Res.* 3, 99-106 (1979)
- HENDERSON, G.I., HOYUMPA, A.M., ROTHSCHILD, A. and SCHENKER, S.: Effect of ethanol and ethanol-induced hypothermia on protein synthesis in pregnant and fetal rats. *Alcoholism: Clin. exp. Res.* 3, 165-177 (1980)
- HENDERSON, G.I., PATWARDHAN, R.v., HOYUMPA, A.M. and SCHENKER, S.: Fetal Alcohol Syndrome: Overview of Pathogenesis. *Neurobehav. Toxicol. and Teratol.* 3, 73-80 (1981)
- HOFMAN, L. and HOSEIN, E.A.: Effects of chronic ethanol consumption on the rate of rat liver mitochondrial protein turnover and synthesis. *Biochem. Pharmacol.* 27, 457-463 (1978)
- HOWARD, E.: Effects of corticosterone and food restriction on growth and on DNA, RNA and cholesterol contents of the brain and liver in infant mice. *J. Neurochem.* 12, 181-191 (1965)
- HURLEY, L.S. GOWAN, J. and SWENERTON, H.: Teratogenic effects of short-term and transitory zinc deficiency in rats.

Teratology 4, 199-204 (1971)

HURLEY, L.S. and SWENERTON, H.: Congenital malformations resulting from zinc deficiency in rats. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 123, 692-696 (1966)

JARLSTEDT, J. and HULTBORN, R.: Experimental alcoholism in rats: RNA content and composition in isolated cerebellar Purkinje cells after long-term treatment. J. Neuropath. exp. Neurol. 31, 364-351 (1972)

JARLSTEDT, J. and HAMBERGER, A.: Experimental alcoholism in rats. Effect of acute ethanol intoxication on the in vitro incorporation of ^3H -leucine into neuronal and glial proteins. J. Neurochem. 19, 2299-2306 (1972)

JENKINS, J.S. and CONNOLLY, J.: Adrenocortical response to ethanol in man. Br. med. J. 2, 804-805 (1968)

JONES, K.L. and SMITH, D.W., ULLELAND, C.N. and STREISSGUTH, A.P.: Pattern of malformation in offspring of chronic alcoholic mothers. Lancet, 1267-1271 (1973 I)

JONES, K.L. and SMITH, D.W.: Recognition of the fetal alcohol syndrome in early infancy. Lancet, 999 (1973 II)

KAKIHANA, R. and BUTTE, J.C.: Ethanol and endocrine function. Biochem. and Pharmacol. of Ethanol 2, 147-164 (1979)

KAKIHANA, R., BUTTE, J.C. and MOORE, J.A.: Endocrine effects of maternal alcoholization: Plasma and brain testosterone,

dihydrotestosterone, estradiol and corticosterone.

Alcoholism: Clin. exp. Res. 4, 57-61 (1980)

KARNOVSKY, M.J.: A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. J. Cell. Biol. 27, 137 A (1965)

KESANIEMI, Y.A. and SIPPEL, H.W.: Placental and foetal metabolism of acetaldehyde in rat. I. Contents of ethanol and acetaldehyde in placenta and foetus of the pregnant rat during ethanol oxidation. Acta Pharmac. Tox. 37, 43-48 (1975)

KORNGUTH, S.E., RUTLEDGE, J.J., SUNDERLAND, E., SIEGEL, F., CARLSON, I., SMOLLENS, J., JUHL, U. and YOUNG, B.: Impeded cerebellar development and reduced serum thyroxine levels associated with fetal alcohol intoxication. Brain Res. 177, 347-360 (1979)

KRONICK, J.B.: Teratogenetic effects of ethyl alcohol administered to pregnant mice. Am. J. Obstet. Gynaecol. 124, 676 (1976)

KURIYAMA, K., SZE, P.Y. and RAUSCHER, G.R.: Effects of acute and chronic ethanol administration on ribosomal protein synthesis in mouse brain and liver. Life Sci. 10, 181-189 (1971)

LAMAR, C.: The effects of acute ethanol administration on in vitro protein synthesizing system from rat brain. Brain Res. 44, 698-700 (1972)

- LANE, B.P. and LIEBER, C.S.: Ultrastructural alterations in human hepatocytes following ingestion of ethanol with adequate diets. *Am. J. Pathol.* 49, 493-603 (1966)
- LEIBER, B.: Das bedeutendste teratogene Agens der Gegenwart. *Alkohol. Medizin* 5, 345 (1977)
- LEMOINE, P., HAROUSSEAU, H., BORTYRU, J. et MENUET, J.C.: Les enfants des parents alcooliques anomalies observés apropos des 27 cas. *Arch. Fr. Pediat.* 25, 831 (1968)
- LEWIS, P.D., BALASZ, R., PATEL, A.J. and JOHNSON, A.L.: The effect of undernutrition in early life on cell generation in the rat brain. *Brain Res.* 83, 235-247 (1975)
- LIN, G.W.J., HAUGEN, E. and LESTER, D.: Ethanol and rat fetal development. *Fedn. Proc.* 37, 1116 (1978)
- LINDENBAUM, J.: Hematologic effects of alcohol. In: Kissen, H. and Begleiter, H. (Eds.): *The Biology of Alcohol*, Vol. 3, Clinical Pathology, New York: Plenum Press, 461-480 (1974)
- LINDHOLM, D.B. and KHAWAJA, J.A.: Alterations in number and activity of cerebral free and membrane-bound ribosomes after prolonged ethanol ingestion by the weanling rat. *Neuroscience* 4, 1007-1013 (1979)
- MAJEWSKI, F., BIERICH, J.R., LÖSER, H., MICHAELIS, R., LEIBER, B. und BETTECKEN, F.: Zur Klinik und Pathogenese der Alkohol-embryopathie. *Münch. Med. Wschr.* 118, 1635-1642 (1976)

- MAJEWSKI, F.: Alcohol Embryopathie: Some Facts and Speculations about Pathogenesis. Neurobehavioral Toxicol. and Teratol. 3, 129-144 (1981)
- MAJEWSKI, F.: Über schädigende Einflüsse des Alkohols auf die Nachkommen. Nervenarzt 49, 410-416 (1978)
- MARTIN, J.C., MARTIN, D.C., LUND, C.A. and STREISSGUTH, A.P.: Maternal alcohol ingestion and cigarette smoking and their effects on newborn conditioning. Alcohol: Clinical and Exp. Res. 1, 243-247 (1977)
- McCONNELL, P. and BERRY, M.: The effects of undernutrition on Purkinje cell dendritic growth in the rat. J. Comp. Neurol. 177, 159-172 (1978)
- MORLAND, J. and SJETNAN, A.E.: Effect of ethanol intake on the incorporation of labelled amino acids into liver protein. Biochem. Pharmacol. 25, 2125-2130 (1976)
- MORLAND, J. and BESSESEN, A.: Inhibition of protein synthesis by ethanol in isolated rat liver parenchymal cells. Biochem. biophys. Acta 474, 312-320 (1977)
- NAEYE, R.L., BLANC, W. and PAUL, C.: Effects of maternal nutrition on the human fetus. Pediatrics 52, 494-503 (1973)

- NESTLER, V.M, SPOHR, H.L. und STEINHAUSEN, H.C.: Die Alkohol-embryopathie, Stuttgart 1981 (Enke Verl.)
- NEVILLE, H. and CHASE, H.: Undernutrition and cerebellar development . Exp. Neurol. 33, 458-497 (1971)
- NICHOLSON, J. and ALTMAN, J.: Effects of early hypothyroidism and hyperthyroidism on development of rat cerebellar cortex. Brain Res. 44, 13-23 (1972)
- ØISUND, J.F., FJORDEN, A.E. and MORLAND, J.: Is moderate ethanol consumption teratogenic in the rat? Acta Pharmac. Tox. 43, 145-155 (1978)
- O'SHEA, K.S. and KAUFMAN, M.H.: The teratogenic effect of acetaldehyde: implications for the study of the fetal alcohol syndrome. J. Anat. 128, 65-76 (1979)
- PAPARA-NICHOLSON, D. and TELFORD, I.R.: Effects of alcohol on production and fetal development in the guinea pig. Anat. Record 127, 438-439 (1957)
- PATEL, A., BALASZ, R. and JOHNSON, A.: Effect of undernutrition on cell formation in the rat brain. J. Neurochem. 20, 1151-1165 (1973)
- PERIN, A., SCALABRINO, G., SESSA, A. and ARNABOLDI, A.: In vitro inhibition of protein synthesis in rat liver as a consequence of ethanol metabolism. Biochem. biophys. Acta 366, 101-108 (1974)

- PERSSON, L. and SIMA, A.: The effect of pre- and postnatal undernutrition on the development of the cerebellar cortex in the rat. *Neurobiology* 5, 151-166 (1975)
- PHILLIPS, D.S. and STAINBROOK, G.L.: Effects of early alcohol exposure upon adult learning ability and taste preferences. *Physiol. Psychol.* 4, 473-475 (1976)
- PHILLIPS, S.C. and CRAGG, B.G.: A change in susceptibility of rat cerebellar Purkinje cells to damage by alcohol during foetal, neonatal or adult life. *Neuropath. and Appl. Neurobiol.* 8, 441-454 (1982 a)
- PHILLIPS, S.C. and CRAGG, B.G.: A change in susceptibility of rat cerebellar Purkinje cells to damage by acetaldehyde during foetal, neonatal or adult life. *Neuropath. and Appl. Neurobiol.* 8, 455-463 (1982 b)
- PILSTROM, L. and KIESSLING, K.H.: Effect of ethanol on the growth and on the liver and brain mitochondrial functions of the offspring of rats. *Acta Pharmacol. et Toxicol.* 25, 225-232 (1967)
- PYSH, J.J. and PERKINS, R.E.: Undernutrition and Purkinje cell development. *Neurosci. Abst.* 1, 756 (1975)
- RANDALL, C.L., TAYLOR, W.J. and WALKER, D.W.: Ethanol induced malformations in mice. *Clin. Exp. Res.* 1, 219 (1977)

RASKIN, N.H. and SOKOLOFF, L.: Brain alcohol dehydrogenase.
Science 162, 131-132 (1968)

RASKIN, N.H. and SOKOLOFF, L.: Changes in brain alcohol
dehydrogenase activity during chronic ethanol ingestion
and withdrawal. J. Neurochem. 22, 427-434 (1974)

RAWAT, A.K.: Ribosomal protein synthesis in the fetal and
neonatal rat brain as influenced by maternal ethanol
consumption. Res. Comm. Chem. Pathol. 12, 723-732 (1975)

RAWAT, A.K.: Effect of maternal ethanol consumption on
foetal and neonatal rat hepatic protein synthesis.
Biochem. J. 160, 653-661 (1976)

RAWAT, A.K.: Derangement in cardiac protein metabolism in
fetal alcohol syndrome. Res. Comm. chem. Pathol. Pharmac.
25, 365-375 (1979)

REBIÈRE, A. et DAINAT, J.: Etude Ultrastructurale Quantitative
du Pericaryon de la Cellule de Purkinje et de son En-
vironnement chez le Rat Normal et Hypothyroïdien Agés de
21 Jours. Exp. Brain Res. 25, 511-527 (1976)

RICHARDSON, K.C., JARETT, L. and FINKE, E.H.: Embedding in
epoxy resins for ultrathin sectioning in electron
microscopy. Stain Technology 35, 313-323 (1960)

ROSE, J.C., MEIS, P.J. and CASTRO, M.I.: Alcohol and Fetal
Endocrine Function. Neurobehav. Toxicol. and Teratol. 3,
105-110 (1981)

- ROSETT, H.L.: Clinical pharmacology of the fetal alcohol syndrome . In: Biochemistry and Pharmacology of Ethanol, Vol. 2, edited by E. Majchrowicz and E.P. Noble. New York Plenum Press, 1979, pp. 485-509
- ROSMAN, N. and MALONE, M.: Reversal of delayed myelinogenesis in the fetal alcohol syndrome. Neurology (Minneap.) 27, 369 (1977)
- ROTHSCHILD, M.A., ORATZ, M., MORLAND, J., SCHREIBER, S.S., BURKS, A. and MARTIN, B.: Effects of Ethanol on Protein Synthesis and Secretion. Pharmac. Biochem. and Behavior 13, 31-36 (1980)
- SALAS, M. and CINTRA, L.: Nutritional influences upon somato-sensory evoked responses during development in the rat. Physiol. Behav. 10, 1019-1022 (1973)
- SANDOR, S.: The influence of aethyl-alcohol on the developing chick embryo: II. Revue Roumaine d'Embryologie et de Cytologie. Serie d'Embryologie 5, 167-171 (1968)
- SANDOR, S. und ELIAS, S.: The influence of aethyl-alcohol on the developing chick embryo. Revue Roumaine d'Embryologie et de Cytologie. Serie d'Embryologie 5, 51-76 (1968)
- SCHREIBER, S., BRIDEN, S.K., ORATZ, M. and ROTHSCCHILD, M.A.: Ethanol, acetaldehyde and myocardial protein synthesis. J. Clin. Invest. 51, 2820-2826 (1972)

- SHAYWITZ, B.A., GRIFFIETH, G.G. and WARSHAW, J.B.: Hyper-activity and Cognitive Deficits in Developing Rat Pups Born to Alcoholic Mothers: An Experimental Model of the Expanded Fetal Alcohol syndrome (EFAS). *Neurobehav. Toxicol.* 1, 113-122 (1979)
- SJOBLUM, M., PILSTROM, L. and MORLAND, J.: Activity of alcohol dehydrogenases in the liver and placenta during the development of the rat. *Enzyme* 23, 108-115 (1978)
- SMART, I.C. and DOBBING, J.: Vulnerability of developing brain. IV. Passive avoidance behaviour in young rats following maternal undernutrition. *Dev. Psychobiol.* 5, 129-136 (1972)
- SOKOLOFF, L. and ROBERTS, P.: Biochemical mechanism of the action of the thyroid hormones in nervous and other tissues. In: D.H. Ford (Ed.): *Influence of Hormones on the Nervous System*. p. 213, Karger, Basel, 1971
- STEWART, R.J.C., MERAT, A. and DICKERSON, J.W.T.: Effect of Low Protein Diet in Mother Rats on the Structure of the Brains of the Offspring. *Biol. of the Neonate*, 126-133 (1974)
- STOCKARD, C.R.: The influence of alcohol and other anaesthetics on embryonic development. *Am. J. Anat.* 10, 369-392 (1910)
- SULLIVAN, L.W.: Folates in human nutrition. In: *Newer Methods of Nutritional Biochemistry*, Vol. 3. New York:

Academic Press, Inc., 365-406 (1967)

SWANBERG, K.M. and CRUMPACKER, D.W.: Genetic differences in reproductive fitness and offspring viability in mice exposed to alcohol during gestation. *Behav. Biol.* 20, 122-127 (1977)

TABOR, H. and TABOR, C.W.: Biosynthesis and metabolism of 1,4 - diaminobutane, spermidine, spermine and related amines. *Adv. Enzymol.* 36, 293-268 (1972)

TEWARI, S. and NOBLE, E.P.: Ethanol and brain protein synthesis. *Brain Res.* 26, 469-473 (1971)

TEWARI, S., FLEMING, E.W. and NOBLE, E.P.: Alterations in brain RNA metabolism following chronic ethanol ingestion. *J. Neurochem.* 24, 561-569 (1975)

TEWARI, S., GOLDSTEIN, M.A. and NOBLE, E.P.: Alterations in cell free brain protein synthesis followign ethanol withdrawal in physically dependent rats. *Brain Res.* 126, 509-518 (1977)

TEWARI, S., DUERBECK, N.B. and NOBLE, E.P.: Effects of long-term ethanol ingestion on RNA metabolism by inner membranes of rat brain mitochondria. *Res. Comm. chem. Pathol. Pharmac.* 22, 401-418 (1978)

TEWARI, S. and NOBLE, E.P.: Effects of ethanol on cerebral protein and ribinucleic acid synthesis. *Biochemistry and Pharmac. of Ethanol* 2, 541-548 (1979)

THADANI, P.V., LAU, C., SLOTKIN, T.A. and SCHANBERG, S.M.:

Effects of maternal ethanol ingestion on amine uptake into synaptosomes of fetal and neonatal rat brain.

J. of. Pharm. and Exp. Therapeutics 200, 292-297 (1977)

THADANI, P.V. and SCHANBERG, S.M.: Effect of maternal ethanol

ingestion on serum growth hormone in the developing rat.

Neuropharmacology 18, 821-826 (1979)

TITTMAR, H.G.: Some effects of alcohol presented during the

prenatal period, on the development of rats. British

J. on Alcohol and Alcoholism 12, 71-83 (1977)

TZE, W.J. and LEE, M.: Adverse effects of maternal alcohol

consumption in pregnancy and foetal growth in rats.

Nature 257, 479-480 (1975)

ULLRICH, K.H. and DIETZMAN, K.: A contribution to the post-

natal enzymatic state of maturity of gyrus hippocampi

in the embryofetal alcohol syndrome of the rat. Exp.

Pathol. 18, 170-174 (1980)

VEGHELYI, P.V., OSZTIVICS, M., KARDOS, G., LEISZTNER, L.,

SZASZOVSKY, E., IGALI, S. and IMREI, J.: The fetal alcohol

syndrome: symptoms and pathogenesis. Acta Paediat.

Acad. Sci. Hung. 19 (3), 171-189 (1978)

VEGHELYI, P.V.: Fetal abnormality and maternal ethanol

metabolism. The Lancet, July 2, 53-54 (1983)

- VOLK, B.: Delayed cerebellar histogenesis in embryo-fetal alcohol syndrome. Light microscopic study of the rat cerebellum. Act. Neuropathol. 39, 157- 163 (1977)
- VOLK, B.: The embryo-fetal alcohol syndrome of the rat. A model of delayed cerebellar histogenesis. Abstrct Suppl. zu Neuropädiatrie 10, 455 (1979)
- VOLK, B., BERLET, H. and MALETZ, J.: The influence of alcohol on cerebellar histo- and synaptogenesis. Light- and electron microscopic, histochemical and neurochemical inverstigations of the rat cerebellar cortex. Drug Alcohol Depend 6, 67 (1980)
- VOLK, B., MALETZ, J., TIEDEMANN, M., MALL, G., KLEIN, C. and BERLET, H.: Impaired Maturation of Purkinje Cells in the Fetal Alcohol Syndrome of the Rat. Light and Electron Microscopic Investigantions. Act. Neuropathol. 54, 19-29 (1981)
- WINICK, M. and NOBEL, A.: Cellular response in rats during nutrition at various ages. J. Nutrit. 89, 300-306 (1966)
- WINICK, M.: Malnutrition and brain development. J. Pediat. 74, 667-679 (1969)
- WINICK, M.: Effects of malnutrition on the maturing CNS. In: W.J. Friedlander (Ed.): Advances in Neurology 13, Current Reviews, Raven Press, New York, 193-246 (1975)
- WINICK, M.: Malnutrition and brain development. Oxford, University Press, London, 1976

WITTSTRUCK, T.A., WOODWARD, B., FORBES, W.B. and CASPI, E.:

Influence of Prenatal and Continuous Postnatal Protein
Deficient Diets on the Development of Rats. Biol.
Neonate 35, 1-7 (1979)

YANAI, J. and GINSBURG, B.E.: A developmental study of etha-

nol effect on behaviour and physical development in
mice. Alcoholism Clinical and Exp. Res. 1, 325-333 (1977)

G Dank

Der Versuch, dessen Teilergebnisse in der vorliegenden Arbeit dargestellt wurden, war nur dank der Möglichkeiten, die uns in den drei Instituten der Freien Universität Berlin zur Verfügung standen, durchzuführen:

dem Institut für Neuropathologie am FB 02,
dem Institut für Toxikologie und Embryonal-
pharmakologie am FB 03,
dem Institut für Anatomie am FB 01.

In allen drei Instituten haben uns Mitarbeiter beraten, Hilfestellung gegeben, Unterstützung und Kritik gewährt.

Insbesondere bedanken wir uns bei:

Frau Dr. G. Stoltenburg-Didinger, Inst. f. Neuropath.,
Herrn Dr. I. Chahoud, Inst. f. Embryonalpharmakologie,
Herrn Dr. H.-L. Spohr, Rittberg Krankenhaus Berlin,
Herrn Dr. B. Schuhmacher, Inst. f. Embryonalpharmakol.,
Herrn Dr. R. Bass, Bundesgesundheitsamt Berlin
und den Tierpflegern des Instituts für Embryonal-
pharmakologie.

H Lebenslauf

- 8.10.1950 in Essen geboren als Tochter des
Industriekaufmann Karl Ott und dessen
Ehefrau Katharina, geb. Laux
- 1957-1969 Besuch der Volksschule bzw. des neu-
sprachlichen Gymnasiums in Essen
- 1969 Abitur
- 1969-1975 Studium der Publizistik, Soziologie
und Pädagogik in Münster und Berlin
- 1975 Magister Artium.
- 1975 Mitarbeit am Bundesinstitut für Berufs-
bildungsforschung in Berlin
- 1976-1982 Studium der Humanmedizin in Berlin
- 1982 Approbation
- seit Sept.1983 Ärztin im Bereitschaftsdienst der
Abteilung für Chirurgie des Allge-
meinen Krankenhaus Heidberg in
Hamburg

